

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局



(43) 国際公開日
2004 年 5 月 13 日 (13.05.2004)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 2004/040318 A1

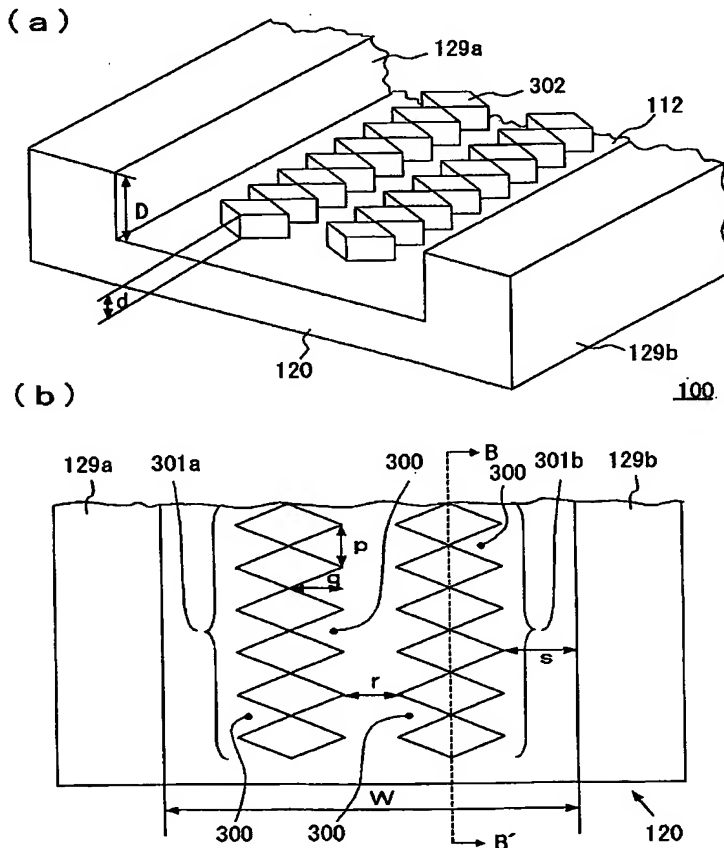
- (51) 国際特許分類: G01N 35/08, 27/26, 30/48, 37/00, B01D 57/02, B81C 1/00
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2003/013852
- (22) 国際出願日: 2003 年 10 月 29 日 (29.10.2003)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ:
特願 2002-316872
2002 年 10 月 30 日 (30.10.2002) JP
特願 2003-365142
2003 年 10 月 24 日 (24.10.2003) JP
- (71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 日本電気株式会社 (NEC CORPORATION) [JP/JP]; 〒108-8001 東京都港区芝五丁目7番1号 Tokyo (JP).

- (72) 発明者; および
(75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 佐野 亨 (SANO, Toru) [JP/JP]; 〒108-8001 東京都港区芝五丁目7番1号 日本電気株式会社内 Tokyo (JP). 馬場 雅和 (BABA, Masakazu) [JP/JP]; 〒108-8001 東京都港区芝五丁目7番1号 日本電気株式会社内 Tokyo (JP). 飯田 一浩 (IIDA, Kazuhiro) [JP/JP]; 〒108-8001 東京都港区芝五丁目7番1号 日本電気株式会社内 Tokyo (JP). 川浦 久雄 (KAWAURA, Hisao) [JP/JP]; 〒108-8001 東京都港区芝五丁目7番1号 日本電気株式会社内 Tokyo (JP). 井口 憲幸 (IGUCHI, Noriyuki) [JP/JP]; 〒108-8001 東京都港区芝五丁目7番1号 日本電気株式会社内 Tokyo (JP). 阪本 利司 (SAKA-MAMOTO, Toshitsugu) [JP/JP]; 〒108-8001 東京都港区芝五丁目7番1号 日本電気株式会社内 Tokyo (JP). 服部 渉 (HATTORI, Wataru) [JP/JP]; 〒108-8001 東京都港区芝五丁目7番1号 日本電気株式会社内 Tokyo (JP).

[続葉有]

(54) Title: SEPARATOR, METHOD FOR MANUFACTURING SAME, AND ANALYSIS SYSTEM

(54) 発明の名称: 分離装置およびその製造方法、ならびに分析システム



(57) Abstract: A separator (100) comprises a separation channel (112) and partitions (301a, 301b). The partitions (301a, 301b) are provided with collecting portions (300). The collecting portions (300) of the partitions (301a, 301b) hold molecules whose sizes are small enough to enter the collecting portions (300), thereby slowing down their speeds in the separation channel (112). Consequently, molecules in a sample can be accurately separated according to their sizes.

(57) 要約: 分離装置 (100) は、分離用流路 (112) と、隔壁 (301a) および隔壁 (301b) を有し、隔壁 (301a) および隔壁 (301b) には捕捉部 (300) が形成される。そのため、隔壁 (301a) および隔壁 (301b) に設けられた捕捉部 (300) に進入可能なサイズの分子は、捕捉部 (300) に捕捉され、分離用流路 (112) を移動する速度がおそくなるので、分子のサイズに応じて試料を精度よく分離することができる。



(JP). 染谷 浩子 (SOMEYA, Hiroko) [JP/JP]; 〒108-8001
東京都 港区芝 五丁目7番1号 日本電気株式会社内
Tokyo (JP).

(74) 代理人: 速水 進治 (HAYAMI, Shinji); 〒150-0021 東京
都 渋谷区恵比寿西 2-17-8 Tokyo (JP).

(81) 指定国 (国内): CA, CN, US.

(84) 指定国 (広域): ヨーロッパ特許 (DE, FR, GB).

添付公開書類:

— 国際調査報告書

2文字コード及び他の略語については、定期発行される
各PCTガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語
のガイダンスノート」を参照。

明 細 書

分離装置およびその製造方法、ならびに分析システム

5 技術分野

本発明は、試料を分離する装置および方法に関し、さらに詳細には、微小スケールで様々なサイズの核酸断片をはじめとする物質、例えば細胞、核酸断片、あるいは、アミノ酸、ペプチド、タンパク質などの有機分子、金属イオン、コロイド、ラテックスビーズなどを分離する際などに用いて好適な分

10 離装置および分離方法に関する。

背景技術

細胞や核酸、タンパク質など生体物質の分析では、試料をあらかじめ分離精製したり、試料をサイズや電荷に応じて分離する操作が行われる。たとえば、DNAの塩基配列を決定する方法として、ジデオキシ法（サンガー法）
15 が広く利用されている。サンガー法では、目的の1本鎖DNAを鋳型としてTaqポリメラーゼと4種のデオキシリボヌクレオチドを用いて相補DNAを合成する際、4種のうち1種のジデオキシリボヌクレオチドを加えてDNA合成を阻害させ、様々な長さのフラグメントを合成する。この反応をそれぞれ上記の4種類について行い、1塩基の差で分けられる分解能をもったポリ
20 アクリルアミド電気泳動装置にかけて分離してDNA配列を明らかにする。こうした分離操作は、分析時間の長短を決定する重要な因子となっており、分離に要する時間を短縮することは、この分野における重要な技術的課題となっている。この目的のため、十分に高い分離能を有し、この結果、短時間
25 でも所望の物質を正確に分離できる分離装置の開発が望まれている。

従来、分離装置として、超遠心分離装置やキャピラリー電気泳動装置が広く用いられてきた。しかしながら、超遠心分離装置やキャピラリー電気泳動は、分離に長時間を要する上、試料が大量に必要となる。また、分解能について

も、必ずしも満足できる水準にはない。

一方、目的物質を分離する装置として、米国特許第 6, 0 2 7, 6 2 3 号には、多数の障害物 (obstacle) をマトリクス状に配置し、DNA 分子の長さの違いによって DNA 分子を分離する分離装置が開示されている。ここでは、複数の障害物のコラム (columns) により境界付けられた複数の流体チャネル (fluid channel) と複数の障害物の列 (rows) により境界付けられた複数の流体通路 (fluid passageway) が形成されている。電界がかけられると、障害物の行間の流体チャネルを分子が通過するが、分子は障害物の後壁部分に押し返されて複数の液体チャネル間に拡散される。分子の拡散速度は分子のサイズやその他の物理特性に依存するため、異なる分子を分離することができる。このとき、小さい分子はより速く拡散するため、流体チャネル中で拡散される時間が長くなる。

特許文献 1 米国特許第 6, 0 2 7, 6 2 3 号明細書

15 発明の開示

しかしながらこの技術においては、多数の障害物を狭い間隔で精密に作製することが困難なため、障害物の間隔を十分に小さくすることは困難であった。また、多数の微細な障害物がマトリクス状に形成された構成となっているため、分離装置の形成過程や使用段階において、障害物の損傷が生じやすいという問題もあった。また、ここでは、拡散速度の違いを利用して分子の分離が行われているが、分子の拡散速度は分子のサイズだけでなく、種々の物理特性にも依存するため、様々なサイズの分子を含む試料をより精度よく分離するためにはさらに検討が必要である。

本発明は上記事情に鑑みなされたものであって、様々なサイズの物質を含む試料を優れた分解能で分離することができる分離技術を提供することを目的とする。本発明の別の目的は、様々なサイズの物質を含む試料を短時間で分離することができる分離技術を提供することである。本発明の別の目的は、様々なサイズの物質を含む試料を分離するためのコストを低減することがで

きる技術を提供することである。本発明の別の目的は、様々なサイズの物質を含む試料を分離するための分離装置を安定的に製造することができる技術を提供することである。

5 本発明によれば、試料の通る流路と、流路の壁部と、流路中に設けられた試料分離領域と、を備え、試料分離領域において、壁部に、試料中の特定成分を捕捉する捕捉部が設けられたことを特徴とする分離装置が提供される。

本発明において、壁部は、流路の内部を外部から区画する部材であって、流路の外部を覆う部材、または流路内を区画する部材である。壁部は、単一部材から構成されてもよいし、複数の部材から構成されてもよい。また、捕捉部は試料中の成分が滞留する領域のことである。捕捉部は流路の側方に設けられてよい。流路を通過する試料中の成分はサイズに応じて捕捉部に滞留する時間が異なるため、試料中の特定成分を捕捉部に捕捉し、試料中の成分をサイズに応じて分離することができる。このように、捕捉部が壁部に形成されるので、試料分離領域を微細な構成としても損傷を低減することができるため、捕捉部を精密に作製することができる。また、損傷を低減できるので、分離装置を安定的に製造することができ、コストを低減することができる。さらに、捕捉部が壁部に形成されるので、分離対象の試料に応じて種々の形状の捕捉部を設けることができ、これによりサイズの異なる成分の滞留時間の差を大きく異ならせることができ、分離能を高めることができる。このように分離能を高めることにより、分離に要する時間を短縮することができる。迅速な分離を行うことができる。

10
15
20

本発明の分離領域において、複数の捕捉部が設けられてもよい。こうすることにより、試料中の成分をさらに確実に分離することができる。

本発明の分離装置において、捕捉部は、流路の延在方向に対して垂直な方向に、幅狭に形成されてもよい。こうすることにより、所定の大きさ以下の成分のみが捕捉部に捕捉されるため、試料中の特定成分を確実に分離することができる。このとき、捕捉部は、底面の形状が円形または楕円形となるように形成されていてもよい。このようにすると、試料中の成分の目詰まりが

25

抑制されるため、さらに確実な分離が可能となる。

また、本発明の分離装置において、捕捉部は、流路の中心から遠ざかるにつれて開口幅が狭くなるように形成することができる。ここで、幅とは、分離装置の流路の水平面内および水平面と垂直方向のものの両方を含む。この
5 ようにすると、サイズの小さい成分ほど流路の中心から遠ざかった捕捉部の奥深くまで進入することが可能であるため、捕捉部から脱出するのに時間を要する。そのため、サイズの大きい成分ほど速く流路を通過するため、サイズによって成分を精度よく分離することができる。このように、サイズの大きい成分は比較的スムーズに試料分離領域を通過する方式となるので、目詰
10 まりが発生することなく、スループットが顕著に改善される。

本発明の分離装置において、捕捉部は、底面の形状が略三角形となるように形成されてよい。このようにすると、サイズの大きい成分は捕捉部の奥には進入せず、サイズの小さい成分のみが捕捉部の奥深くに進入するので、サイズが異なる成分を含む試料の分離を効果的に行うことができる。

15 本発明の分離装置において、壁部に、流路の中心に向かって突出する複数の凸部が形成されてよく、捕捉部は、隣り合う凸部の間に形成されてよい。

本発明の分離装置において、捕捉部は、壁部に設けられたくぼみ部であってもよい。ここで、くぼみ部は、流路の中心から遠ざかる方向にくぼんだ領域である。くぼみ部は、壁部において、流路の水平面方向にくぼんでいても
20 よいし、水平面と垂直方向にくぼんでいてもよい。一つのくぼみ部をなす捕捉部が単一の部材により構成されていてもよい。また、一つのくぼみ部が複数の部材の間隙に形成されてもよい。

本発明の分離装置において、基板の表面に形成され、開口部を有する流路と、開口部を被覆する蓋部と、を有し、蓋部が壁部の一部をなし、基板と蓋
25 部との間隙部が捕捉部を構成することができる。こうすることにより、サイズの小さい成分のみが、基板と蓋部の間隙部に設けられた捕捉部に侵入する構成とすることができる。このため、試料中の成分を、サイズに応じて効率よく分離することができる。

本発明の分離装置において、捕捉部が、流路の延在方向に沿って延在する構成とすることができる。

本発明の分離装置において、壁部の壁面が、捕捉部に対して凸曲面を有することができる。これにより、捕捉部の奥部分の幅を狭く形成することができる。このようにすると、サイズの大きい成分は捕捉部の奥には進入せず、
5 サイズの小さい成分のみが捕捉部の奥深くに進入するので、サイズが大きく異なる成分を含む試料の分離を効果的に行うことができる。

本発明の分離装置において、壁部の壁面が、捕捉部に対して凹曲面を有することができる。このようにすると、サイズの比較的大きい分子も捕捉部に
10 進入するが、サイズに応じて進入の程度が少しずつ変わるため、サイズにあまり差がないような成分を含む試料の分離を効果的に行うことができる。

本発明の分離装置において、流路の下流側において、上流側よりも大きい捕捉部が形成されてよい。ここで、大きい捕捉部とは、サイズの大きい試料を捕捉可能に形成されたことをいう。複数の捕捉部は、流路の試料の流れる
15 方向に沿って順次大きくなるように形成することもできる。また、流路の試料の流れる方向に沿って順次大きくなるように形成された捕捉部の間に、適当な大きさの複数の捕捉部が配置された構成とすることもできる。このようにすると、試料が流路の試料の流れる方向の先に進むと、サイズが比較的大きい分子の中でも、サイズの小さい分子ほど徐々に捕捉部に捕捉されるよう
20 になるので、分子をサイズの違いに応じてより精度よく分離することができる。

本発明の分離装置において、流路の下流側において、上流側に形成された捕捉部の開口幅よりも広い開口幅を有する捕捉部が形成されてよい。このようにすると、試料が流路の試料の流れる方向の先に進むほど捕捉可能な成分
25 の大きさが大きくなるため、サイズが比較的大きい分子の中でも、サイズの小さい分子ほど徐々に捕捉部に捕捉されるようになるので、分子をサイズの違いに応じてより精度よく分離することができる。

本発明の分離装置において、流路の下流側において、上流側に形成された

- 捕捉部の奥行きよりも小さい奥行きを有する捕捉部が形成されてよい。このようにすると、試料が流路の試料の流れる方向の先に進むほど捕捉可能な成分の大きさが大きくなるため、サイズが比較的大きい分子の中でも、サイズの小さい分子ほど徐々に捕捉部に捕捉されるようになるので、分子をサイズの
- 5 の違いに応じてより精度よく分離することができる。

本発明によれば、試料の通る流路と、流路の壁部と、該流路中に設けられた試料分離領域と、を備え、試料分離領域において、流路は、複数の幅広部を有し、幅広部は試料分離領域の他の領域よりも幅が広く形成されたことを特徴とする分離装置が提供される。

- 10 このようにすれば、幅が広く形成された領域において、試料中の成分が滞留する。このため、幅広部が捕捉部として、試料中の成分を捕捉する構成とすることができる。試料中の成分のサイズに応じて捕捉部に滞留する時間が異なるため、試料中の成分をサイズに応じて分離することができる。

- 15 本発明の分離装置において、流路は、試料の流れる方向に沿って広幅部および狭幅部を交互に有することができる。このようにすれば、広幅部において、試料中の成分が滞留し、サイズに応じて捕捉部に滞留する時間が異なるため、試料中の成分をサイズに応じて分離することができる。

本発明の分離装置において、試料分離領域は、連続的に拡大および縮小するように形成することができる。

- 20 本発明の分離装置において、試料分離領域は、段階的に拡大および縮小するように形成することができる。

- 本発明によれば、試料の通る流路と、該流路中に設けられた試料分離領域と、を備え、試料分離領域において、流路は、隔壁と、隔壁により分断された複数の並行流路と、各複数の並行流路の側方において、隔壁に形成され、
- 25 試料中の特定成分を捕捉する複数の捕捉部と、を含むことを特徴とする分離装置が提供される。ここで、捕捉部は、隔壁または流路の側壁のいずれか一方または両方に形成することができる。

本発明の分離装置において、複数の並行流路において、捕捉部は、異なる

大きさ、形状、またはパターンで形成されてよい。このようにすれば、種々の条件で同時に試料を分離することができる。

本発明の分離装置において、複数の並行流路間を連通する複数の連通部が隔壁に形成されてもよい。ここで、連通部は、本発明の分離装置の分離対象の試料中の成分のうち、サイズの小さい分子が通過できる程度の大きさとする
5 こともできるが、それよりもさらに小さい大きさとすることもできる。ここで、連通部は、溶媒を通過させる機能を有する。このようにすれば、試料分離領域において目詰まりなどが起こったとき等に洗浄して目詰まりを解消できる等、取り扱いを容易にすることができる。

10 本発明の分離装置は、試料分離領域において、試料に対して流路の幅方向に外力を付与する幅方向外力付与手段をさらに備えることができる。外力は、例えば電圧、圧力等とすることができる。外力が電圧の場合、幅方向外力付与手段は電極を含むことができる。試料の幅方向に外力を付与することにより、試料中の成分が捕捉部に捕捉されやすくなり、試料中の成分を精度よく
15 分離することができる。また、分離装置が隔壁に隔てられた複数の並行流路を含む場合に、隔壁に連通部を設けておくことにより、複数の並行流路に同時に幅方向の外力を付与することができ、スループットが顕著に改善される。

本発明によれば、試料の通る流路と、該流路中に設けられた試料分離領域とをそれぞれ複数と、試料に対して流路の長さ方向に外力を付与して試料を
20 複数の流路において異なる速度で移動せしめる外力付与手段と、を備えたことを特徴とする分離装置が提供される。外力は、例えば電圧、圧力、毛細管現象とすることができる。外力が電圧の場合、外力付与手段は電極を含むことができる。

このようにすれば、試料の分離を種々の条件で並行して行うことができる
25 ので、以下のような効果を生じる。

(1) 分離装置により試料中の成分の分離を行う際、分離中の成分の移動速度によって、最も精度よく分離される成分のサイズが異なる。たとえば移動速度が速い場合、サイズが大きめの成分の分離を精度よく行うことができる。

一方、移動速度が遅い場合、サイズが小さめの成分の分離を精度よく行うことができる。したがって、複数の試料分離領域に異なる電圧を応じて試料の移動速度を異ならせることにより、いずれかの試料分離領域において、注目する成分と同等のサイズの成分を精度よく分離することができる。

- 5 (2) 試料中の成分の移動度 μ は、 $v = E \mu$ (E は電場、 v は成分の速度)と表すことができる。複数の試料分離領域における成分のピーク位置と付与した外力の関係を示す直線の傾きから、より正確な移動度 μ を求めることができる。

- 10 本発明の分離装置において、流路は、基板上に形成された溝部であってよく、当該分離装置は、流路に試料を導く試料導入部と、流路中に設けられた、試料を複数の成分に分離する試料分離領域と、試料分離領域で分離された試料を分析または分取する試料回収部と、をさらに備えることができる。このようにすれば、基板上で試料の分離、分析および回収を行うことができるので、スループットを改善することができる。さらに、様々なサイズの物質を
15 含む試料を分離するためのコストを低減することもできる。

- 本発明によれば、特定成分を検出するための分析システムであって、上述したいずれかの分離装置と、当該分離装置により分離された特定成分を検出するための検出部と、を含むことを特徴とする分析システムが提供される。ここで、分析システムは、検出部および分離装置に加え、注入部、イオン化
20 部、および分析部をさらに含む質量分析システムとすることができる。さらに、分析システムは、GC部またはLC装置を含むGC-MS分析装置またはLC-MS分析装置とすることもできる。

- 本発明の分離装置において分離対象となる試料としては、微小スケールで様々なサイズの核酸断片をはじめとする核酸、あるいは、アミノ酸、ペプチ
25 ド、タンパク質などの有機分子、金属イオン、コロイド、ラテックスビーズ等が挙げられる。このうち、たとえば核酸またはタンパク質を試料とした場合、より効果的である。これらの試料の分離に際しては、小さいサイズの分子を高い分解能で分離しなければならないため、数百ナノメートルオーダー

以下の微小な間隙が設けられた構造が必須となる。一方、巨大物質による目詰まりを効果的に抑制することも要求される。本発明によれば、これらの要求の双方に充分に対応できるため、核酸またはタンパク質の分離に好適である。

- 5 本発明の分離装置において、捕捉部の表面は親水性膜で覆うことができる。親水性膜としては、たとえば捕捉部を構成する材料の酸化膜とすることができる。具体的には、基板材料としてシリコンを用い、所定の形状に形成した基板表面に親水性膜としてシリコン酸化膜を設けた構成とすることができる。試料の分離に際しては装置内に緩衝液（水溶液）等を導入することが必要となるが、上記のような構成とすることによって、緩衝液等を装置内部に円滑に導入することができる。また、緩衝液等を導入して実際に装置を使用する際にも、空隙の形成を抑制し、試料の流動を円滑にする等の効果が得られる。
- 10

本発明によれば、試料の通る流路中に、試料中の特定成分を捕捉する捕捉部が形成された試料分離領域を含む分離装置の製造方法であって、基板上に流路となる溝部を形成し、溝部において、基板に複数のくぼみ部を形成する工程と、複数のくぼみ部の表面を酸化して各くぼみ部の表面に酸化膜を成長させて捕捉部を形成する工程と、を含むことを特徴とする分離装置の製造方法が提供される。ここで、くぼみ部は、流路の中心から遠ざかる方向にくぼんだ形状に形成する。

15

- 20 このようにすると、たとえばリソグラフィ工程で凹部を形成した後に、凹部内にシリコン酸化膜を成長させて捕捉部が形成されるので、リソグラフィ工程で捕捉部を形成する場合よりも捕捉部をさらに微細な構造に形成することができる。ここで、くぼみ部の対向する壁面、およびこれらの壁面の間に他の面が存在する場合はその面からシリコン酸化膜を成長させ、これらのシリコン酸化膜が接触して流路から遠ざかるにつれて幅が狭くなる捕捉部が形成される。
- 25

本発明によれば、試料の通る流路中に、前記試料中の特定成分を捕捉する捕捉部が形成された試料分離領域を含む分離装置の製造方法であって、基板

上に複数の柱状体が互いに間隔を隔てるように形成する工程と、柱状体の側面を酸化して柱状体の側面に酸化膜を成長させ、柱状体間の間隔を狭くして隣り合う柱状体間に捕捉部を形成する工程と、を含むことを特徴とする分離装置の製造方法が提供される。ここで隣り合う柱状体が接するか、または近接する程度にシリコン酸化膜を成長することができる。このようにすると、たとえばリソグラフィ工程で複数の柱状体を形成した後に、柱状体の表面にシリコン酸化膜を成長させて柱状体間の間隔を狭くして隣り合う柱状体間に捕捉部が形成されるので、リソグラフィ工程で捕捉部を形成する場合よりも捕捉部をさらに微細な構造に形成することができる。

10 本発明によれば、試料の通る流路中に、前記試料中の特定成分を捕捉する捕捉部が形成された試料分離領域を含む分離装置の製造方法であって、基板表面にレジスト膜を形成する工程と、凹凸の設けられた成型面をレジスト膜に当接させた状態で加圧し、レジスト膜に凹凸形状を付与する工程と、凹凸形状の凹部に形成されたレジスト膜を除去し、レジスト開口部を設ける工程
15 と、開口部の設けられたレジスト膜をマスクとして基板をエッチングし、捕捉部を形成する工程と、を含むことを特徴とする分離装置の製造方法が提供される。

この本発明によれば、金型の成型面を当接させた状態で加圧することによってレジスト膜へ凹凸形状を付与するため、捕捉部を200 nm以下、さらには100 nm以下の間隔で精度良く形成することができる。通常、このような微細加工を行う際には、電子線露光によるリソグラフィ工程を経ることが必要となるが、この場合、生産性を十分に高くすることが困難であるという課題を有していた。本発明によれば、このようなリソグラフィ工程が不要となるため生産性が大幅に向上する。なお、本発明におけるレジスト膜は、
25 光や電子線に対する感受性を備えている必要はなく、加熱、加圧により所望の形状に付与され、かつ、ドライエッチング耐性を有する材料により構成されることが望ましい。たとえばポリメチルメタクリレート系樹脂等が好適に用いられる。なお、凹部のレジスト膜の除去は、たとえばアッシングにより

実施することができる。

本発明によれば、試料の通る流路中に、前記試料中の特定成分を捕捉する捕捉部が形成された試料分離領域を含む分離装置の製造方法であって、少なくとも表面部分が樹脂材料により構成された基板に対し、凹凸の設けられた成型面を当接させた状態で加圧することにより、表面部分に捕捉部を形成することを特徴とする分離装置の製造方法が提供される。

この製造方法によれば、リソグラフィ工程が不要となるため生産性が大幅に向上する。

また本発明によれば、試料の通る流路中に複数の捕捉部が形成された試料分離領域を含む分離装置の製造方法であって、酸化ケイ素からなる層を備えた基板に対し、当該酸化ケイ素からなる層上にケイ素からなる層を形成する工程と、上記ケイ素からなる層を選択的にエッチングする工程と、当該ケイ素からなる層を熱酸化することにより、当該ケイ素からなる層と上記酸化ケイ素からなる層とを一体化させる工程と、を含むことを特徴とする分離装置の製造方法が提供される。

この方法により製造された分離装置における流路表面と基板とは完全に絶縁されているため、特に電界を用いて分離、分析を行う場合に効果的である。またその際には、より高電圧を印加することもできるため、自由度の高い分離、分析を実施することができる。

本発明によれば、試料の通る流路中に、試料中の特定成分を捕捉する捕捉部が形成された試料分離領域を含む分離装置の製造方法であって、基板の表面に、流路となる溝部を形成するとともに、溝部の表面にくぼみ部を形成する工程と、試料分離領域において、基板上に被覆を配設し、くぼみ部と被覆との間隙に捕捉部を形成する工程と、を含むことを特徴とする分離装置の製造方法が提供される。

この方法によれば、簡便な方法で安定的に分離装置を製造することができる。また、分離装置の製造コストを低下させることができる。

本発明の分離装置の製造方法において、複数の前記捕捉部を形成すること

ができる。こうすることにより、試料中の成分をさらに確実に分離できる分離装置を安定的に製造することができる。

5 なお、本発明における分離装置は、試料分離領域を備えているものであればよく、サンプル導入領域や外力付与手段は装置自体に備わっていなくてもよい。たとえば、本発明における分離装置を使い捨て型のカートリッジタイプとし、これを、所定のユニットに組み込んで使用する方式とすることもできる。

本発明によれば、様々なサイズの物質を含む試料を優れた分解能で分離することができる。

10

図面の簡単な説明

上述した目的、およびその他の目的、特徴および利点は、以下に述べる好適な実施の形態、およびそれに付随する以下の図面によってさらに明らかになる。

15 図 1 は、実施の形態における分離装置の一例を示す図である。

図 2 は、実施の形態の一例における液溜めの構造を説明するための図である。

図 3 は、実施の形態の一例における液溜めの構造を説明するための図である。

20 図 4 は、図 1 に示した分離用流路の構造を詳細に示した図である。

図 5 は、図 1 に示した分離用流路の構造を詳細に示した図である。

図 6 は、実施の形態の分離装置の製造方法を説明するための図である。

図 7 は、実施の形態の分離装置の製造方法を説明するための図である。

図 8 は、実施の形態の分離装置の他の製造方法を説明するための図である。

25 図 9 は、実施の形態の分離装置の他の製造方法を説明するための図である。

図 10 は、実施の形態の分離装置の他の製造方法を説明するための図である。

図 11 は、実施の形態の分離用流路の変形例を示す図である。

図 1 2 は、実施の形態の分離用流路の変形例を示す図である。

図 1 3 は、実施の形態の分離用流路の変形例を示す図である。

図 1 4 は、実施の形態の分離用流路の変形例を示す図である。

図 1 5 は、実施の形態の分離用流路の変形例を示す図である。

5 図 1 6 は、実施の形態の分離用流路の変形例を示す図である。

図 1 7 は、実施の形態の分離用流路の変形例を示す図である。

図 1 8 は、実施の形態の分離用流路の変形例を示す図である。

図 1 9 は、実施の形態の分離用流路の変形例を示す図である。

図 2 0 は、実施の形態の分離用流路の変形例を示す図である。

10 図 2 1 は、実施の形態における分離用流路の構造を詳細に示す上面図である。

図 2 2 は、実施の形態における分離用流路の構造を詳細に示す上面図である。

15 図 2 3 は、実施の形態における分離用流路の構造を詳細に示す上面図である。

図 2 4 は、実施の形態における分離用流路の構造を詳細に示す上面図である。

図 2 5 は、実施の形態における分離用流路の構造を詳細に示す上面図である。

20 図 2 6 は、実施の形態における分離装置の一例を示す上面図である。

図 2 7 は、分離装置を含む分析システムの構成を示す図である。

図 2 8 は、分離装置を含む分析システムの構成を示す図である。

図 2 9 は、分離装置を含む分析システムの構成を示す図である。

図 3 0 は、分離装置を含む分析システムの構成を示す図である。

25 図 3 1 は、本発明の分離装置の一例を示す図である。

図 3 2 は、本発明の分離装置に用いるジョイントの具体的な構造を示す図である。

図 3 3 は、電子顕微鏡写真による実施例の分離用流路の上面図を示す図で

ある。

図 3 4 は、実施例で用いた試料のフラグメントを示す図である。

図 3 5 は、実施例における試料の分離結果を示す図である。

図 3 6 は、実施例における試料の分離結果を示す図である。

- 5 図 3 7 は、電子顕微鏡写真による参照例の分離用流路の上面図を示す図である。

図 3 8 は、参照例における試料の分離結果を示す図である。

図 3 9 は、参照例における試料の分離結果を示す図である。

図 4 0 は、分離装置を含む分析システムの構成を示す図である。

- 10 図 4 1 は、捕捉部が流路の底部に形成された構成を示す図である。

図 4 2 は、捕捉部が流路の底部に形成された構成を示す図である。

図 4 3 は、実施例における試料の分離結果を示す図である。

図 4 4 は、実施の形態における分離用流路の構造を詳細に示す図である。

図 4 5 は、実施の形態における分離用流路の構造を詳細に示す図である。

- 15 図 4 6 は、実施の形態における分離用流路の構造を詳細に示す図である。

図 4 7 は、実施の形態における分離用流路の構造を詳細に示す図である。

図 4 8 は、実施の形態における分離用流路の構造を詳細に示す図である。

図 4 9 は、実施の形態における分離用流路の構造を詳細に示す図である。

- 20 図 5 0 は、実施の形態における分離用流路において基板に形成された突起を示す図である。

図 5 1 は、実施の形態における分離用流路の構造を詳細に示す図である。

発明を実施するための最良の形態

- 25 本発明において、流路や試料分離領域は、シリコン基板や石英等のガラス基板あるいはシリコン樹脂等のプラスチック材料により構成された基板の表面に形成することができる。たとえば、これらの基板の表面に溝部を設け、これを表面部材によって封止し、これらによって囲まれた空間内に流路や試料分離領域を形成することができる。

以下、図面を参照して本発明の実施の形態についてさらに説明する。

(第一の実施の形態)

図1は、本発明の第一の実施の形態に係る分離装置の一例を示す図である。

基板110上に分離用流路112が形成され、これと交差するように投入
5 用流路111および回収用流路114が形成されている。投入用流路111、
分離用流路112および回収用流路114には、それぞれその両端に液溜め
102a、液溜め102b、液溜め101a、液溜め101b、液溜め10
3a、液溜め103bが形成されている。各々の液溜めには電極が設けられ
ており、これを用いて例えば投入用流路111、分離用流路112、および
10 回収用流路114の両端のそれぞれに電界を印加することができる。

また、分離用流路112には、検出部113が設けられている。装置の外
形寸法は用途に応じて適宜な値が選択されるが、通常は、図示したように、
縦5mm～50mm、横3mm～50mmの値とする。

図2は、図1における液溜め101a付近の拡大図である。また図3は、
15 図2におけるA-A'断面図である。分離用流路112および液溜め101a
が設けられた基板110上には、緩衝液を注入できるようにするための開口
部802が設けられた被覆801が配設される。また被覆801の上には、
外部電源に接続することができるように伝導路803が設けられる。また、
電極板804が液溜め101aの壁面と伝導路803とに沿うように配設さ
20 れる。電極板804と伝導路803とは圧着され、電氣的に接続される。な
お、その他の液溜め101b、102a、102b、103a、および10
3bについても同様の構造を有する。

図4は、分離装置100の分離用流路112の構造を詳細に示す図である。
図4(a)は分離用流路112の斜視図、図4(b)は分離用流路112の
25 上面図である。分離用流路112は、基板120に幅W、深さDの溝部が形
成され、この中に2つの隔壁301aおよび隔壁301bが設けられている。
隔壁301aおよび隔壁301bは、複数の柱状体302の連なりにより構
成される。各柱状体302は、高さdの底面が菱形の四角柱である。複数の

柱状体 302 は、隔壁 301 a および隔壁 301 b が、それぞれ、開口幅 p 、奥行き q の捕捉部 300 を複数有するように配置される。隔壁 301 a と隔壁 301 b との間隔は r 、隔壁 301 a と流路壁 129 a、または隔壁 301 b と流路壁 129 b との間隔は s である。分離用流路 112 において、試料は隔壁 301 a と隔壁 301 b との間、または隔壁 301 a と流路壁 129 a との間、または隔壁 301 b と流路壁 129 b との間をそれぞれ通過する。各寸法は、例えば以下の範囲とすることができる。

W : 10 μm ~ 30 mm

D : 10 nm ~ 500 μm

10 d : 10 nm ~ 5 μm

p : 10 nm ~ 10 μm

q : 10 nm ~ 10 μm

r : 10 nm ~ 10 μm

s : 5 nm ~ 5 μm

15 本実施の形態において、溝部の幅 W 、深さ D 、柱状体 302 の高さ d 、捕捉部 300 の開口幅 p および奥行き q 、隔壁 301 a と隔壁 301 b との間隔 r 、および隔壁 301 a または隔壁 301 b と流路壁 129 a または流路壁 129 b との間隔 s は、分離しようとする成分（核酸、アミノ酸、ペプチド、タンパク質などの有機分子、キレートした金属イオンなどの分子、イオン）のサイズに合わせて適宜選択される。例えば、

(i) 細胞とその他の成分の分離、濃縮の場合、

W : 3 mm ~ 30 mm

D : 1 μm ~ 500 μm

d : 1 μm ~ 500 μm

25 p : 1 μm ~ 10 μm

q : 1 μm ~ 10 μm

r : 1 μm ~ 10 μm

s : 500 nm ~ 5 μm

(ii)細胞を破壊して得られる成分のうち、固形物（細胞膜の断片、ミトコンドリア、小胞体）と液状分画（細胞質）の分離、濃縮の場合、

W : 300 μ m ~ 3 mm

D : 100 nm ~ 50 μ m

5 d : 100 nm ~ 50 μ m

p : 100 nm ~ 1 μ m

q : 100 nm ~ 1 μ m

r : 100 nm ~ 1 μ m

s : 50 nm ~ 500 nm

10 (iii)液状分画の成分のうち、高分子量成分（DNA、RNA、タンパク質、糖鎖）と低分子量成分（ステロイド、ブドウ糖等）の分離、濃縮の場合、

W : 30 μ m ~ 300 μ m

D : 10 nm ~ 5 μ m

d : 10 nm ~ 5 μ m

15 p : 10 nm ~ 100 nm

q : 10 nm ~ 100 nm

r : 10 nm ~ 100 nm

s : 5 nm ~ 50 nm

とすることができる。

20 たとえば、隔壁301aと隔壁301bとの間隔rや隔壁301aまたは隔壁301bと流路壁129aまたは流路壁129bとの間隔sが広すぎると、サイズの小さい分子の分離が充分に行われなくなることがあり、これらの間隔rまたはsが狭すぎると、目詰まりが発生しやすくなる場合がある。これらのサイズを適切に設定することにより、分離能が一層向上する。

25 図5は、2つの隔壁301aおよび301b間を試料が通過する様子を示す模式図である。図5に示すように、捕捉部300においては、小さな分子ほど捕捉部300の奥深くまで進入することが可能であるため、捕捉部300から脱出するのに時間を要することとなる。そのため、本実施の形態にお

ける分離用流路 1 1 2 では、大きな分子が小さな分子よりも先に通過していく。分子サイズが小さいほど、捕捉部 3 0 0 の奥深くを通過して長い経路を通ることになる一方、大きいサイズの物質は、隔壁 3 0 1 間を円滑に通過するからである。この結果、小さいサイズの物質は、大きいサイズの物質よりも後から排出される形で分離がなされる。サイズの大きい物質は比較的スムーズに分離領域を通過する方式となるので、目詰まりが発生することなく、スループットが顕著に改善される。

ここで、分離用流路 1 1 2 に 2 つの隔壁 3 0 1 a および隔壁 3 0 1 b を設置した場合の図を用いて説明したが、隔壁は 2 つ以上設けてもよく、一つの隔壁のみ設ける構成としてもよい。また、流路壁 1 2 9 a および流路壁 1 2 9 b に複数の捕捉部 3 0 0 を形成する構成とすることもできる。この場合、分離用流路 1 1 2 には隔壁を設けなくてもよい。さらに、ここでは隔壁の両側面に捕捉部 3 0 0 を形成する構成としたが、隔壁の一方のみに捕捉部 3 0 0 を形成する構成とすることもできる。

図 1 に戻り、分離装置 1 0 0 を使って試料の分離を行う方法について説明する。まず試料を液溜め 1 0 2 a、もしくは液溜め 1 0 2 b に注入する。液溜め 1 0 2 a に試料を注入した場合は、液溜め 1 0 2 b の方向へ試料が流れるように電圧を印加し、液溜め 1 0 2 b に注入した場合は、液溜め 1 0 2 a の方向へ試料が流れるように電圧を印加する。これにより、試料は投入用流路 1 1 1 へと流入し、結果的に投入用流路 1 1 1 の全体を満たす。この時、分離用流路 1 1 2 上では、試料は投入用流路 1 1 1 との交点にのみ存在し、投入用流路 1 1 1 の幅程度の狭いバンドを形成している。

次に、液溜め 1 0 2 a および液溜め 1 0 2 b 間の電圧印加をやめ、液溜め 1 0 1 a と液溜め 1 0 1 b との間に、試料が液溜め 1 0 1 b の方向へ流れるように電圧を印加する。これにより試料は分離用流路 1 1 2 を通過する。試料は、分子のサイズと荷電の強さに応じた速度で、分離用流路 1 1 2 を進んでゆく。その結果、試料中の異なる分子群は、それぞれ異なる速度で移動するバンドに分離される。これらの分離されたバンドは、検出部 1 1 3 に至る

と、光学的あるいは、他の物理化学的な方法で検出される。光学的検出とは、例えば、分子に蛍光物質を結合させておき、検出部 1 1 3 においてレーザーを照射し、分子から発せられる蛍光を観測することである。分離されたバンドは、さらに、バンドごとに回収することができる。所望のバンドが検出部 1 1 3 を通過したことを目安に、液溜め 1 0 1 a および液溜め 1 0 1 b 間の電圧印加をやめ、代わりに液溜め 1 0 3 a と液溜め 1 0 3 b との間に電圧を印加する。すると分離用流路 1 1 2 中と、回収用流路 1 1 4 の交差点に存在するバンドは、回収用流路 1 1 4 に流れこむ。液溜め 1 0 3 a および液溜め 1 0 3 b 間の電圧印加を一定時間の後に停止すると、液溜め 1 0 3 a または液溜め 1 0 3 b に、分離されたバンドに含まれる所望の分子が回収される。

次に本実施の形態に係る分離装置 1 0 0 の製造方法を図 6 および図 7 を参照して説明する。分離装置 1 0 0 は、シリコン基板 2 0 1 表面に溝部（不図示）を設けて図 1 に示した投入用流路 1 1 1、分離用流路 1 1 2、回収用流路 1 1 4、液溜め 1 0 1 a、1 0 1 b、1 0 2 a、1 0 2 b、1 0 3 a、1 0 3 b を形成し、次いで分離用流路 1 1 2 の所定箇所に試料分離領域を形成することにより得られる。以下、分離用流路 1 1 2 の試料分離領域の作製方法を説明する。ここで、図 6 は、図 4 (b) に示す分離用流路 1 1 2 の構造における B-B' 断面図、図 7 は、図 4 (b) に示す分離用流路 1 1 2 の構造における上面図である。まず、図 6 (a) に示すように、シリコン基板 2 0 1 上にシリコン酸化膜 2 0 2、カリックスアレーン電子ビームネガレジスト 2 0 3 をこの順で形成する。シリコン酸化膜 2 0 2、カリックスアレーン電子ビームネガレジスト 2 0 3 の膜厚は、40 nm、65 nm とする。

次に、電子ビーム (EB) を用い、分離用流路 1 1 2 の隔壁 3 0 1 a および隔壁 3 0 1 b 領域を露光する。現像はアセトンを用いて行い、エタノールによりリンスする。この工程により、図 6 (b) に示すように、パターニングされたレジスト 2 0 4 が得られる。このときの上面図を図 7 (a) に示す。

次に、シリコン酸化膜 2 0 2 を CF_4 、 CHF_3 の混合ガスを用いて RIE エッチングする (図 6 (c))。レジストをアセトン、アルコール、水の混合

液を用いた有機洗浄により除去した後、酸化プラズマ処理をする(図6(d))。このときの上面図を図7(b)に示す。つづいて、シリコン基板201をHBrガスを用いてECREッチングする。エッチング後のシリコン基板201のエッチング深さは、たとえば400nm以上1 μ m以下とすることができる(図6(e))。つづいてBHFバッファードフッ酸でウェットエッチングを行い、シリコン酸化膜202を除去する(図6(f))。このときの上面図を図7(c)に示す。

その後、シリコン基板201を熱処理により熱酸化すると、シリコン基板201表面が酸化されて酸化膜211が形成され、柱状体が膨張して、隣り合う柱状体どうしが接して隔壁301aおよび隔壁301bが形成される(図6(g))。このときの上面図を図7(d)に示す。このようにシリコン基板201表面を熱処理することにより、分離用流路112に親水性を付与することができる。以上のプロセスにより、図4に示す分離用流路112の構造が作製される。

また、たとえば親水基をもつカップリング剤を塗布したり、薬液と接触させることにより化学酸化する等の方法を採用してシリコン基板201表面に親水性処理を行うこともできる。このとき、シリコン基板表面を化学酸化することにより、均一な薄膜を表面に形成することができ好ましい。化学酸化の方法としては、たとえば濃硝酸を用いることができ、2nm程度の薄膜を形成することができる。

さらに、流路壁に対してDNAやタンパク質などの分子が粘着することを防ぐために、流路壁に付着防止処理を行うことが好ましい。これにより、分離装置が良好な分離能を発揮することができる。付着防止処理としては、例えば、細胞膜を構成するリン脂質に類似した構造を有する物質を流路壁にコーティングすることが挙げられる。このような物質としてはリピジュア(登録商標、日本油脂社製)などが例示される。リピジュア(登録商標)を用いる場合は、0.5wt%となるようにTBE(トリス-ほう酸-EDTA)などの緩衝液に溶解させ、この溶液を流路内に満たし、数分間放置することによ

て流路壁をコーティングすることができる。そのようにすることによって、回収したい成分が、たとえばタンパク質などの生体成分である場合、成分の変性を防ぐ効果が発揮されるとともに、装置の流路への成分の非特異吸着を抑制することができるため、回収率を向上することができる。また、流路壁をフッ素系樹脂、あるいは牛血清アルブミンによりコーティングすることによって、DNAなどの分子が流路壁に粘着することを防止することもできる。

次に、図8を参照して、本実施の形態に係る分離装置100の他の製造方法を説明する。図6(g)を参照して説明したシリコン基板201の熱酸化時に、酸化条件によっては膜が十分に形成されないこともあり得る。このような場合、電流が基板へ漏れてしまうことから、試料の分離を電気泳動により行う際には必要な電界が得られないことになる。これを回避するために、以下のようにして分離装置100を製造することもできる。

まず、シリコン基板201を熱酸化することによりシリコン酸化膜202を形成する。その後、シリコン酸化膜202上に多結晶シリコンを堆積させ、多結晶シリコン膜707を形成する。つづいて多結晶シリコン膜707を熱酸化することにより酸化膜708を形成する(図8(a))。

次に、酸化膜708上にカリックスアレーン電子ビームネガレジストを形成し、電子ビーム(EB)を用い、液溜めおよび試料の流路となる領域をパターン露光することによりレジストをパターニングする。その後、レジストをマスクとして酸化膜708をRIEエッチングし、レジストを除去する(図8(b))。つづいて、エッチングされた酸化膜708をマスクとして多結晶シリコン膜707をECREッチングする(図8(c))。その後、酸化膜708を除去する(図8(d))。つづいて、エッチングされた多結晶シリコン膜707を熱処理により熱酸化すると、多結晶シリコン膜707表面が酸化されて酸化膜709が形成され、柱状体が膨張して、隣り合う柱状体どうしが接して隔壁301aおよび隔壁301bが形成される(図8(e))。このとき、酸化膜709はシリコン酸化膜202と一体化される。

上記のようにして加工された分離用流路はシリコン基板201とは完全に

絶縁されているため、電気泳動の際の電界を確実に確保することが可能である。

なお、上記実施形態におけるシリコン基板 201 およびシリコン酸化膜 202 を石英基板で代替してもよい。また、シリコン基板 201、シリコン酸化膜 202 および多結晶シリコン膜 707 の代わりに S O I (Silicon On Insulator) 基板を利用することもできる。

図 9 を参照して、本実施の形態に係る分離装置 100 のまた別の製造方法を説明する。分離装置 100 の分離用流路 112 は、レジストマスクを用いて直接シリコン基板 201 をエッチングすることにより形成することもできる。まず、シリコン基板 201 上にレジスト 900 を形成した後(図 9 (a))、パターニングし(図 9 (b))、これをマスクとしてシリコン基板 201 をエッチングする(図 9 (c))。これ以降の処理は、図 6 (f) および図 6 (g) を参照して説明したのと同様の手法で行うことができる。

図 10 を参照して、本実施の形態に係る分離装置 100 のまた別の製造方法を説明する。分離装置 100 の分離用流路 112 は、凹凸のある金型等の原盤を基板上のレジスト等に押しつけて加工するナノインプリンティング技術を用いてマスクのパターニングを行う方法により形成することもできる。まず図 10 (a) に示すように、表面に樹脂膜 160 が形成されたシリコンからなるシリコン基板 201 と、成型面を所定の凹凸形状に加工した金型 106 とを用意する。ここで、金型 106 の凹凸形状は、図 7 (a) に示したような形状とする。樹脂膜 160 の材質はポリメチルメタクリレート系材料とし、その厚みは 200 nm 程度とする。金型 106 の材質は特に制限がないが、Si、SiO₂、SiC 等を用いることができる。

次いで図 10 (b) に示すように、金型 106 成型面を樹脂膜 160 表面に当接させた状態で加熱しながら加圧する。圧力は 600～1900 psi 程度とし、温度は 140～180℃程度とする。その後、基板を脱型し、酸素プラズマアッシングを行い、樹脂膜 160 をパターニングする(図 10 (c))。

つづいて樹脂膜 160 をマスクとしてシリコン基板 201 をドライエッチングする。エッチングガスは、たとえばハロゲン系ガスを用いる(図 10 (d))。これ以降の処理は、図 6 (f) および図 6 (g) を参照して説明したのと同様の手法で行うことができる。

- 5 以上のプロセスにより、図 4 に示す分離用流路 112 の構造が作製される。本実施の形態では、電子線露光によるマスク開口部の形成工程が不要となるため、生産性が顕著に向上する。

さらに、分離装置 100 の製造方法の他の例として、金型を用いて直接柱状体 302 を形成することもできる。具体的には、所定のプラスチック材料
10 を基板上にコートした後、図 10 に示したのと同様の工程により加工成型することができる。このとき、金型 106 の凹凸形状は、図 7 (d) に示したような形状とする。基板上にコートするプラスチック材料は、成型性が良好で、かつ、適度な親水性を有するものが好ましく用いられる。たとえば、ポリビニルアルコール系樹脂、特にエチレンービニルアルコール樹脂 (EVO
15 H)、ポリエチレンテレフタレート、ポリジメチルシロキサン (PDMS) 等が好ましく用いられる。疎水性樹脂であっても、成型後、上記コーティングを行えば流路表面を親水性とすることができるので利用可能である。

次に、図 4 に示した分離用流路 112 の変形例を図 11 ~ 図 16 を参照して説明する。

- 20 図 4 に示した例では、2つの隔壁 301 a および隔壁 301 b は、それぞれの捕捉部 300 が互いに対向するように配置されているが、図 11 に示すように、隔壁 301 a および隔壁 301 b を、それぞれの捕捉部 300 が流路の左右に互い違いに配置された構成とすることもできる。この場合、大きな分子は図中波線で示した主流路 311 を通過していくが、小さな分子は捕
25 捉部 300 の奥深くまで進行するため、捕捉部 300 から脱出するのに時間を要する。そのため、この例においても、試料中の成分を分離用流路 112 により分離することができる。

また、図 12 に示すように、分離用流路 112 において、隔壁 301 a お

よび隔壁 301b をそれぞれ構成する複数の柱状体 302 は、底面が円形の円柱とすることもできる。このようにすれば、捕捉部 300 が凸曲面を有する。このようにすると、サイズの大きい分子は捕捉部 300 の奥には進入せず、サイズの小さい分子のみが捕捉部 300 の奥深くに進入するので、サイズが大きく異なる成分を含む試料の分離を効果的に行うことができる。ここでは柱状体 302 は底面が円形の円柱としたが、柱状体 302 は、底面が楕円形の円柱とすることもできる。

また、隔壁 301a および隔壁 301b は、複数の柱状体 302 を含む構成に限らず、図 13 に示すように、捕捉部 300 が凸曲面を有するように形成することもできる。この場合も、図 12 に示した例と同様に、サイズが大きく異なる成分を含む試料の分離を効果的に行うことができる。

さらに、図 14 に示すように、隔壁 301a および隔壁 301b は、捕捉部 300 が凹曲面を有するように形成することもできる。このようにすると、サイズの比較的大きい分子も捕捉部 300 に進入するが、サイズに応じて進入の程度が少しずつ変わるため、サイズにあまり差がないような成分を含む試料の分離を効果的に行うことができる。このような隔壁 301a および隔壁 301b は、所定形状のマスクを用いた電子ビーム露光により形成することができる。また、図 15 に示すように、シリコン基板 201 に矩形の凹部を形成した後（図 15 (a)）、等方性エッチングにより凹曲面を有する捕捉部 300 を形成することもできる（図 15 (b)）。

さらに、図 16 に示すように、隔壁 301a および隔壁 301b は、主流路 311 から遠ざかる方向に沿って捕捉部 300 が段階的に縮小する形状となるように形成することもできる。このようにすれば、サイズが小さい分子ほど捕捉部 300 の奥深くまで進入することが可能であるため、サイズの小さな分子ほど捕捉部 300 から脱出するのに時間がかかる。これにより、サイズの異なる物質の分離を効果的に行うことができる。

さらに、隔壁 301a および隔壁 301b は、図 17 から図 19 に示すような形状とすることもできる。ここでは、シリコン基板 201 をリソグラフ

ィによりそれぞれ図 17 (a)、図 18 (a)、および図 19 (a) に示すように所定形状にエッチングした後、シリコン基板 201 の側面表面を酸化することにより酸化膜 310 を形成する。これにより、図 17 (b)、図 18 (b)、および図 19 (b) に示すように幅の狭い捕捉部 300 を有する隔壁 301 a (または隔壁 301 b) を形成することができる。たとえば、図 17 (c) および (d) に示すように、くぼみ部を微細な構造とした場合は、くぼみ部の対向する壁面およびこれらの壁面の間の面からシリコン酸化膜を成長させ、これらのシリコン酸化膜が接触して流路から遠ざかるにつれて幅が狭くなる捕捉部 300 が形成される。このようにすれば、リソグラフィでは加工が困難な微細な捕捉部 300 を形成することができる。

また、捕捉部 300 は、図 20 に示すように、奥深くに進むほど幅が狭くなる形状とすることもできる。このようにすれば、サイズが小さい分子ほど捕捉部 300 の奥深くまで進入することが可能であるため、サイズの小さな分子ほど捕捉部 300 から脱出するのに時間がかかる。これにより、サイズの異なる物質の分離を効果的に行うことができる。

(第二の実施の形態)

図 21 は、本実施の形態における分離用流路 112 の構造を詳細に示す上面図である。本実施の形態における分離装置の全体構成は図 1 に示した分離装置 100 と同様である。また、本実施の形態においても、第一の実施の形態における分離用流路 112 と同様、分離用流路 112 には 2 つの隔壁 301 a および隔壁 301 b が設けられる。隔壁 301 a および隔壁 301 b は、それぞれ複数の捕捉部 300 を有するように形成されるが、分離用流路 112 の流れ方向の先に進むほど、捕捉部 300 の開口比 (開口幅 / 奥行き) が大きくなるように形成される。本実施の形態においても、隔壁 301 a および隔壁 301 b は、複数の柱状体 302 a、302 b、および 302 c の連なりにより構成される。柱状体 302 a、302 b、および 302 c は、底面が菱形の四角柱である。ここで、柱状体 302 a、302 b、および 302 c は、分離用流路 112 の流れ方向の先に配置されたものほど菱形の鋭角

部の角度が大きくなるように形成される。ここでは、柱状体 302a、302b、および 302c は、高さ h が等しく、分離用流路 112 の流れ方向の先に配置されたものほど幅 w が小さくなるように形成される。

このようにすれば、たとえば、図中、柱状体 302a 間に形成された捕捉部 300 の開口比（開口幅 p1 / 奥行き q1）は、分離用流路 112 の流れ方向の先に位置する柱状体 302c 間に形成された捕捉部 300 の開口比（開口幅 p2 / 奥行き q2）より小さい。このように、分離用流路 112 の試料導入部付近の捕捉部 300 の開口比を小さくすることにより、試料導入部付近ではサイズの大きい分子は捕捉部 300 に捕捉されず、速やかに分離用流路 112 の流れ方向の先に進む。試料が分離用流路 112 の流れ方向の先に進むほど捕捉部 300 の開口比が大きくなるため、サイズが比較的大きい分子の中でも、サイズの小さい分子ほど徐々に捕捉部 300 に捕捉されるようになるので、分子をサイズの違いに応じてより精度よく分離することができる。

以上の例では、各柱状体 302a、302b、および 302c の高さ h は等しく、分離用流路 112 の流れ方向の先に進むほど柱状体 302a、302b、および 302c の幅 w が小さくなる構成としたが、図 22 に示すように、各柱状体 302a、302b、および 302c の幅 w を等しくして、分離用流路 112 の流れ方向の先に進むほど柱状体 302a、302b、および 302c の高さ h が大きくなる構成とすることもできる。

さらに、隔壁 301a および隔壁 301b は、複数の柱状体 302 を含む構成に限らず、板状の隔壁に凹部または凸部が形成された構成とすることもできる。この場合も、分離用流路 112 の流れ方向の先に進むほど、捕捉可能な最大分子サイズが大きくなるように形成された捕捉部 300 を含むことができる。

（第三の実施の形態）

図 23 は、本実施の形態における分離用流路 112 の構造を詳細に示す上面図である。本実施の形態における分離装置の全体構成は図 1 に示した分離

装置 1 0 0 と同様である。また、本実施の形態においても、第一の実施の形態における分離用流路 1 1 2 と同様、分離用流路 1 1 2 には 2 つの隔壁 3 0 1 a および隔壁 3 0 1 b が設けられる。ここでも隔壁 3 0 1 a および隔壁 3 0 1 b は、それぞれ、複数の柱状体 3 0 2 により構成され、複数の捕捉部 3 0 0 を有する。本実施の形態において、隔壁 3 0 1 a および隔壁 3 0 1 b に複数の連通部 3 0 3 が形成される点で第一の実施および第二の実施の形態の形態と異なる。これにより、隔壁 3 0 1 a と隔壁 3 0 1 b との間の流路、隔壁 3 0 1 a と流路壁 1 2 9 a との間の流路、流路壁 1 2 9 b と隔壁 3 0 1 b との間の流路がそれぞれ連通する。連通部 3 0 3 は、本実施の形態における分離装置 1 0 0 の分離対象の試料中の成分のうち、サイズの小さい分子が通過できる程度の大きさとすることもできるが、それよりもさらに小さい大きさとすることもできる。このように隔壁 3 0 1 a および隔壁 3 0 1 b に連通部 3 0 3 を設けることにより、流路間の流体の移動を促進することができるので、たとえば分離用流路 1 1 2 で目詰まりなどが起こったときに洗浄して目詰まりを解消できる等、取り扱いを容易にすることができる。

図 2 4 は、図 2 3 に示した分離用流路 1 1 2 の他の例を示す図である。ここで、分離用流路 1 1 2 の流路壁 1 2 9 a および流路壁 1 2 9 b には、電極 3 0 4 a および電極 3 0 4 b がそれぞれ設けられる。ここで、図 1 に示した液溜め 1 0 1 a と液溜め 1 0 1 b との間に電圧を印加して分離用流路 1 1 2 に試料を流す処理と、電極 3 0 4 a と電極 3 0 4 b との間に電圧を印加する処理とが交互に行われる。このとき、電極 3 0 4 a と電極 3 0 4 b 間には、液溜め 1 0 1 a と液溜め 1 0 1 b 間に印加する電圧より弱い電圧を印加する。これにより、分離用流路 1 1 2 中の試料は流れ方向に強い力を受けて液溜め 1 0 1 a から液溜め 1 0 1 b の方向に移動し、次いで分離用流路 1 1 2 の幅方向に微小な力を受ける。そのため、隔壁 3 0 1 a および隔壁 3 0 1 b に設けられた捕捉部 3 0 0 に進入可能なサイズの分子は、捕捉部 3 0 0 に捕捉されやすくなり、分離能をさらに向上させることができる。

また、本実施の形態においても、図 2 5 に示すように、分離用流路 1 1 2

において、隔壁 3 0 1 a および隔壁 3 0 1 b をそれぞれ構成する複数の柱状体 3 0 2 は、底面が円形の円柱とすることができる。このようにすれば、捕捉部 3 0 0 が凸曲面を有し、サイズの大きい分子は捕捉部 3 0 0 の奥には進入せず、サイズの小さい分子のみが捕捉部 3 0 0 の奥深くに進入するので、

5 サイズが大きく異なる成分を含む試料の分離を効果的に行うことができる。

ここでは柱状体 3 0 2 は底面が円形の円柱としたが、柱状体 3 0 2 は、底面が楕円形の円柱とすることもできる。

また、図 2 5 (b) に示すように、分離用流路 1 1 2 は、流路壁 1 2 9 a および流路壁 1 2 9 b に、電極 3 0 4 a および電極 3 0 4 b をそれぞれ設けた構成とすることもできる。

10

(第四の実施の形態)

図 2 6 は、本発明の第四の実施の形態における分離装置 1 0 0 の構造を示す上面図である。本実施の形態において、分離装置 1 0 0 は、複数の分離用流路 1 1 2 a、1 1 2 b、および 1 1 2 c を含む点で第一～第三の実施の形態において説明した分離装置 1 0 0 と異なる。複数の分離用流路 1 1 2 a、

15 分離用流路 1 1 2 b、および分離用流路 1 1 2 c には、それぞれの両端に液溜め 4 0 1 a および液溜め 4 0 1 b、液溜め 4 0 2 a および液溜め 4 0 2 b、ならびに液溜め 4 0 3 a および液溜め 4 0 3 b が形成されている。また、分離用流路 1 1 2 a、分離用流路 1 1 2 b および分離用流路 1 1 2 c と交差する

20 るように投入用流路 1 1 1 が形成され、投入用流路 1 1 1 には、その両端に液溜め 1 0 2 a および液溜め 1 0 2 b が形成されている。また、分離用流路 1 1 2 a、分離用流路 1 1 2 b、および分離用流路 1 1 2 c とそれぞれ交差するように回収用流路 1 1 4 a、回収用流路 1 1 4 b、および回収用流路 1 1 4 c が形成される。回収用流路 1 1 4 a、回収用流路 1 1 4 b、回収用流路 1 1 4 c には、それぞれその両端に液溜め 4 0 4 a および液溜め 4 0 4 b、液溜め 4 0 5 a および液溜め 4 0 5 b、ならびに液溜め 4 0 6 a および液溜め 4 0 6 b が形成されている。

25

ここで、各々の液溜めには電極が設けられており、これを用いて例えば分

離用流路 1 1 2 a、分離用流路 1 1 2 b、分離用流路 1 1 2 c、投入用流路 1 1 1、回収用流路 1 1 4 a、回収用流路 1 1 4 b、および回収用流路 1 1 4 c の両端のそれぞれに電界を印加することができる。このとき、分離用流路 1 1 2 a、分離用流路 1 1 2 b、および分離用流路 1 1 2 c には、異なる
5 電圧を印加することができる。

このようにすれば、試料の分離を種々の条件で並行して行うことができるので、以下のような効果を生じる。

(1) 分離装置 1 0 0 により試料中の成分の分離を行う際、分離中の成分の移動速度によって、最も精度よく分離される分子のサイズが異なる。例えば
10 印加する電圧が高ければ移動速度が速くなり、サイズが大きめの分子の分離を精度よく行うことができる。一方、印加する電圧が低ければ移動速度が遅くなり、サイズが小さめの分子の分離を精度よく行うことができる。したがって、複数の分離用流路 1 1 2 a、分離用流路 1 1 2 b、および分離用流路 1 1 2 c に異なる電圧を応じて試料の移動速度を異ならせることにより、い
15 ずれかの分離用流路において、注目する分子と同等のサイズの成分を精度よく分離することができる。

(2) 試料中の成分の移動度 μ は、 $v = E \mu$ (E は電場、 v は成分の速度) と表すことができる。これにより、複数の分離用流路 1 1 2 a、分離用流路 1 1 2 b、または分離用流路 1 1 2 c における成分のピーク位置と印加した
20 電圧の関係を示す直線の傾きから、より正確な移動度 μ を求めることができる。

なお、以上の実施の形態では電界を印加することにより試料を移動させる方式を説明したが、後述するように、分離装置 1 0 0 は、たとえば圧力を加えることにより試料を移動させる方式を用いることができる。この場合、本
25 実施の形態において、複数の分離用流路 1 1 2 a、分離用流路 1 1 2 b、または分離用流路 1 1 2 c には異なる圧力が加えられるように、ポンプ圧を調整することができる。この場合も、複数の分離用流路 1 1 2 a、分離用流路 1 1 2 b、または分離用流路 1 1 2 c に異なる電圧を印加した場合と同様の

効果を得ることができる。また、これらの分離用流路 1 1 2 a、分離用流路 1 1 2 b、または分離用流路 1 1 2 c の幅を異ならせて、同じ圧力を加えるようにすることもできる。

また、分離装置 1 0 0 は、隔壁 3 0 1 a および隔壁 3 0 1 b の構造やサイズが異なるように形成された複数の分離用流路を有してもよい。このようにしても、上記の (1) で説明した効果を得ることができる。

なお、ここでは 3 つの分離用流路のみを示したが、分離装置 1 0 0 は、さらに多数の分離用流路を含む構成とすることができる。この場合、複数の分離用流路には、図示したように共通の投入用流路が形成されてもよいが、分離用流路毎にそれぞれ投入用流路が形成される構成とすることもできる。同様に、複数の分離用流路には、共通の回収用流路が形成される構成とすることもできる。

なお、以上の実施の形態においては、捕捉部 3 0 0 が流路の側方に形成される例を説明したが、捕捉部 3 0 0 が流路の底部に形成された場合も、同様に試料中の成分をサイズに応じて分離することができる。図 4 1 および図 4 2 に、捕捉部 3 0 0 を流路の底部に形成する工程を示す。図 4 1 に示すように、シリコン基板 2 0 1 にドライエッチングにより断面が V 字状の孔を形成し (図 4 1 (a))、シリコン基板 2 0 1 の上面表面を酸化することにより酸化膜 3 1 0 を形成する (図 4 1 (b))。これにより、流路の底部に捕捉部 3 0 0 を形成することができる。

また、図 4 2 に示すように、表面の面方位が (1 0 0) のシリコン基板 3 1 2 を用いてウェットエッチングを行うことにより、基板表面に対して斜めの側壁を有し、四角錐の溝 3 1 3 を形成することもできる (図 4 2 (a))。図 4 2 (b) は、図 4 2 (a) の B-B' 断面図である。ここで、 $\alpha = \text{約 } 54.70^\circ$ となる。この後、図 4 1 に示した例と同様、シリコン基板 3 1 2 の上面表面を酸化することにより、流路の底部に捕捉部 3 0 0 を形成することができる (不図示)。

(第五の実施の形態)

図 4 4 (a) および図 4 4 (b) は、本実施の形態における分離用流路 1 1 2 の構造を詳細に示す図である。図 4 4 (a) は分離用流路 1 1 2 の断面図である。また、図 4 4 (b) は、図 4 4 (a) の分離用流路 1 1 2 を構成する基板 1 2 0 の構成を示す斜視図である。本実施の形態における分離装置
5 の全体構成は図 1 に示した分離装置 1 0 0 と同様である。

図 4 4 (a) において、基板 1 2 0 に溝状に形成された分離用流路 1 1 2 の底面に、分離用流路 1 1 2 の延在方向に沿って互いに平行に形成された複数のカマボコ状の突起 3 2 3 を有する。突起 3 2 3 は凸曲面を有する。また、分離用流路 1 1 2 の上面に、平板状の被覆 3 2 2 が設けられている。

10 本実施の形態の分離用流路 1 1 2 においては、凸曲面を有する突起 3 2 3 と被覆 3 2 2 との間に、分離用流路 1 1 2 の延在方向に延在する捕捉部 3 0 0 が形成される。図 4 4 (a) および図 4 4 (b) に示したように、捕捉部 3 0 0 は、被覆 3 2 2 と突起 3 2 3 との接触部に近づくに従って深さ方向の幅が次第に狭くなる隙間として形成される。

15 突起 3 2 3 のサイズは、試料の種類に応じて選ぶことができるが、たとえば、高さおよび半径を $1\ \mu\text{m} \sim 100\ \mu\text{m}$ 程度とすることができる。また、突起 3 2 3 の中心線どうしが互いに $2 \sim 200\ \mu\text{m}$ 程度の間隔を保って設置されてもよい。

図 4 4 (a) および図 4 4 (b) の構成において、試料中の成分は、隣接
20 する二つの突起 3 2 3 および被覆 3 2 2 により形成された分離用流路 1 1 2 中を、図 4 4 (b) 中に矢印で示した流れ方向に移動する。移動の駆動力は、上述した他の実施の形態と同様に、たとえば電気泳動とすることができる。この時、捕捉部 3 0 0 の中に入り込めるサイズの分子は、サイズ排除クロマトグラフィーの原理で、入り込めない分子よりも隙間から出てくる時間が延
25 びることから、大きな分子は早く、小さな分子は遅く流れ、分子の大きさに応じた分離が実現する。

本実施の形態において、基板の材料として、熱可塑性で絶縁性の高い物質が好適に用いられる。具体的には、たとえば、ガラス、ポリスチレン (P S)、

ポリエチレンテレフタレート（PET）、またはポリメチルメタクリレート（PMMA）などが好適に利用できる。また、被覆 3 2 2 は、基板 1 2 0 と同種の材料とすることができる。

図 4 5（a）～図 4 5（d）は、図 4 4（a）および図 4 4（b）に示した分離用流路 1 1 2 を製造する手順を説明する工程断面図である。図 4 5（a）～図 4 5（d）では、基板 1 2 0 に突起 3 2 3 を形成するための金型 3 2 5 を用いる（図 4 5（a））。金型 3 2 5 は、突起 3 2 3 の幅に対応する幅の溝状の凹部 3 2 6 を有する。このような金型 3 2 5 は、たとえば、シリコン基板を流路の長手方向にガスエッチング、もしくはウェットエッチングすることによって得ることができる。または、金型 3 2 5 となる形状を、電気鋳造法によりニッケル板に転写したものをを用いることもできる。凹部 3 2 6 はカマボコ状突起に対応した形状である必要はなく、矩形の溝や、Si（1 0 0）基板の異方性エッチングにより生じる台形の溝でもよい。

金型 3 2 5 と基板 1 2 0 を、基板 1 2 0 の材料のガラス転移点付近の温度に加熱した後、基板 1 2 0 と金型 3 2 5 を互いに押しつける（図 4 5（b））。このとき、基板 1 2 0 が変形しながら、金型 3 2 5 に彫られた凹部 3 2 6 の内部に向かって基板 1 2 0 が侵入し、凸曲面を有する突起 3 2 3 が形成される。このとき、突起 3 2 3 の高さまたは凸曲面の形状は、プレスする圧力またはプレス時の温度により制御することができる。被覆 3 2 2 と突起 3 2 3 によって形成される捕捉部 3 0 0 の狭さおよび狭まり具合は、この時の調節具合によって制御可能であり、分離したい試料に含まれる成分の分子のサイズ等に合わせて製造することができる。

次に、金型 3 2 5 および基板 1 2 0 を冷却し、金型 3 2 5 を基板 1 2 0 から離型する（図 4 5（c））。離型した金型 3 2 5 は次のプレスに用いる。さらに、離型して得られた突起 3 2 3 が形成された基板 1 2 0 に、被覆 3 2 2 を設置する（図 4 5（d））。こうして、図 4 4（a）および図 4 4（b）に示した分離用流路 1 1 2 が作製される。

図 4 5（d）においては、平板状の被覆 3 2 2 を突起 3 2 3 の上端に設置

することにより、本実施の形態の分離用流路 1 1 2 が得られる。被覆 3 2 2 を突起 3 2 3 上に設置する方法として、たとえば、被覆 3 2 2 を突起 3 2 3 の頂部に当接させた状態で、基板 1 2 0 と被覆 3 2 2 との端に適当なスペーサを設け、このスペーサを基板 1 2 0 および被覆 3 2 2 に接着固定すること
5 で実現できる。また、被覆 3 2 2 または基板 1 2 0 を適度に過熱して他方に融着してもよい。また、被覆 3 2 2 を構成する材料を溶解できる溶媒、たとえばアセトンを、被覆 3 2 2 の接着面に微量に噴霧した後、突起 3 2 3 の上部に押しつけて乾燥させてもよい。また、被覆 3 2 2 の表面に微量の接着剤を塗布し、同様に突起 3 2 3 の上端に接着することによっても被覆 3 2 2 を
10 突起 3 2 3 上に固定できる。

図 4 6 (a) および図 4 6 (b) は、突起の形状の他の例を示す図である。図 4 6 (a) は、分離用流路 1 1 2 の断面図である。また、図 4 6 (b) はその上面図である。なお、図 4 6 (b) では、被覆 3 2 2 は図示していない。

図 4 6 (a) および図 4 6 (b) において、分離用流路 1 1 2 の底面に、
15 半球状の突起 3 2 4 が複数形成されている。図 4 4 (a) および図 4 4 (b) に示した構成のように、分離流路の延在方向に沿った突起 3 2 3 が形成されている場合、試料中の成分が、隣接する突起 3 2 3 によって形成される一つの流路から他の流路へと移動することができない。このため、試料が捕捉部 3 0 0 に詰まってしまう可能性がある。これに対し、図 4 6 (a) および図
20 4 6 (b) の形状の突起 3 2 4 は、この目詰まりを抑制することが可能な構成となっている。図 4 6 (b) に示したように、底面が円形の突起 3 2 4 を集積させることにより、図中に矢印で示したように、試料中の成分が一方向に詰まった場合でも、別の方向へと流れてゆくことが可能となり、成分の目詰りを低減することができる。

25 突起 3 2 4 は、半球状に形成されており、その高さおよび半径は、たとえば $1\ \mu\text{m}$ ~ $100\ \mu\text{m}$ とすることができる。また、突起 3 2 4 の中心間の間隔は、たとえば 2 ~ $200\ \mu\text{m}$ 程度とすることができる。分離用流路 1 1 2 の材料および製造方法は、突起 3 2 3 を形成する場合と、金型の形状が異な

る以外は、同様とすることができる。また、突起 3 2 4 の底面の形状は楕円形としてもよい。

さらに、突起 3 2 4 が、球形であるような分離用流路 1 1 2 とすることもできる。図 4 7 (a) ~ 図 4 7 (d) は、この場合の分離用流路 1 1 2 の作
5 製手順を示す工程断面図である。

基板 1 2 0 として、前述の材料を用いる (図 4 7 (a))。基板 1 2 0 上に約 $1 \mu\text{m}$ 以下の厚さにアクリル樹脂などを基材とする接着剤 3 2 8 を塗布する (図 4 7 (b))。接着剤 3 2 8 の上に、分離用流路 1 1 2 の側方端を封止するための止め板 3 2 9 を分離用流路 1 1 2 方向の長手方向に沿って接着す
10 る。止め板 3 2 9 の材料は、たとえばガラスまたはアクリル系樹脂とすることができる。次に、半径数 $\mu\text{m} \sim 100 \mu\text{m}$ 程度のガラス、もしくはアクリル系樹脂などでできたビーズ 3 2 7 を散布し、分離用流路 1 1 2 の内部に固着させる (図 4 7 (c))。最後に被覆 3 2 2 を、前述と同様にして固定する (図 4 7 (d))。

15 ビーズ 3 2 7 を突起として用いることにより、ビーズ 3 2 7 と基板 1 2 0 およびビーズ 3 2 7 と被覆 3 2 2 との接触部の近傍において、分離用流路 1 1 2 から遠ざかるに従って次第に狭くなる捕捉部 3 0 0 が形成される。この構成においても、サイズ排除型のクロマトグラフィーが実現できる。

また、図 4 8 に示したように、以上に説明した形状の突起を有する基板 1
20 2 0 を積層し、分離用流路が縦方向に並列化された構成とすることもできる。

本実施の形態の構成によれば、高価な加工装置を用いることなく、低コストの簡便な方法により分離用流路を作製することができる。このため、DNA やタンパク質などの微小な生体分子を分離するのに充分幅狭に形成された捕捉部 3 0 0 を有する分離用流路 1 1 2 をさらに低コストで得ることができ
25 る。

さらに、平板状の被覆 3 2 2 にかえて、突起が形成された基板を被覆 3 2 2 としてもよい。被覆 3 2 2 に形成される突起の形状は、たとえば前述の凸曲面を有するカマボコ状や、半球状とすることができる。図 4 9 は、図 4 4

(a) に示した突起 3 2 3 を有する基板 1 2 0 に、基板 1 2 0 と同じく凸曲面を有する突起 3 2 3 が複数互いに平行に形成された被覆 3 2 2 を重ねた様子を示す図である。

図 4 9 において、基板 1 2 0 の突起 3 2 3 の頂部と、被覆 3 2 2 に形成された突起 3 2 3 の頂部とを所望の位置だけずらした状態で、基板 1 2 0 上に被覆 3 2 2 が配設されている。このように、突起 3 2 3 の頂部同士を当接させず、適切な量だけずらして重ねることによって、捕捉部 3 0 0 の形状を好適に調節し、試料中の成分に応じた分離を実施することが可能となる。このため、分離効果を向上させることができる。

また、突起 3 2 3 の頂部同士をずらして基板 1 2 0 と被覆 3 2 2 を重ねることによって、分離用流路 1 1 2 中に形成される捕捉部 3 0 0 の数を数倍程度に増加させることもできる。これについて、図 5 0 (a) および図 5 0 (b) を参照して説明する。

図 5 0 (a) および図 5 0 (b) は、分離用流路 1 1 2 において基板 1 2 0 に形成された突起を示す上面図である。図 5 0 (a) は、分離用流路 1 1 2 にカマボコ状の突起 3 2 3 が形成された場合の例である。図 5 0 (b) は、半球状の突起 3 2 4 を集積した場合の例である。これらの図に示された突起 3 2 3 または突起 3 2 4 において、淡色で示された部分ほど基板 1 2 0 の底面から突出している。また、図中に黒色で示した接触部 3 3 0 は、被覆 3 2 2 と当接される位置を示している。また、これらの図 5 0 (a) および図 5 0 (b) のそれぞれにおいて、左側の図は、それぞれ突起 3 2 3 または突起 3 2 4 の頂部と被覆 3 2 2 に形成された突起 3 2 3 または突起 3 2 4 の頂部とが当接する場合に形成される接触部 3 3 0 の位置を示す。また、右側の図は、基板 1 2 0 の頂部と被覆 3 2 2 の頂部とをずらした場合に形成される接触部 3 3 0 の位置を示す。

図 5 0 (a) の右側の図の場合、基板 1 2 0 と被覆 3 2 2 の頂部をずらして重ねているため、捕捉部 3 0 0 となる部位が左側の図に対して 2 倍に増加している。また、図 5 0 (b) の右側の図中に黒の波線で示した三角形は、

被覆 3 2 2 に形成された半球状の突起 3 2 4 の 1 個と接する基板 1 2 0 側の 3 個の突起 3 2 4 の接触部 3 3 0 をつないで示したものである。この場合、捕捉部 3 0 0 となる部位の数が 6 倍に増加していることがわかる。

5 このように、本実施の形態では、分離用流路 1 1 2 の側面をなす壁部に、
分離用流路 1 1 2 の深さ方向の幅が狭い領域である捕捉部 3 0 0 が形成される。ここでいう壁部は、分離用流路 1 1 2 の側壁であってもよく、また、基板 1 2 0 の底面から分離用流路の中心に向かって突出した突起であってもよい。このような構成によっても、試料中の小さな分子を捕捉部 3 0 0 に捕捉することができるため、試料中の成分を安定的に分離することができる。

10 また、本実施の形態においては、電子線リソグラフィや、ガスエッチング、熱酸化などのコスト高な加工ステップを用いることなく分離用流路 1 1 2 を製造することができる。本実施の形態の分離用流路 1 1 2 は、ウェットエッチング、プレス加工、接着などの安価な加工ステップで得られるため、加工コストの安い分離用流路 1 1 2 を安定的に製造することができる。

15 なお、以上においては基板 1 2 0 に形成する突起と被覆 3 2 2 に形成する突起の形状が同一である場合を例に説明したが、基板 1 2 0 および被覆 3 2 2 に形成する突起の形状は同一の場合に限られず、分離対象となる成分の大きさ等に応じてそれぞれの形状を適宜選択することができる。突起 3 2 3 や突起 3 2 4 を被覆 3 2 2 に形成する際には、たとえば図 4 5 (a) ~ 図 4 5
20 (d) を用いて前述した方法等を利用することができる。

また、以上においては、分離用流路 1 1 2 に複数の捕捉部 3 0 0 が設けられた構成を例に説明をしたが、捕捉部 3 0 0 が一つであってもよい。図 5 1 は、一つの捕捉部 3 0 0 が設けられた分離用流路 1 1 2 の構成を示す断面図である。図 5 1 では、分離用流路 1 1 2 の側壁の一方が凸曲面となっており、
25 基板 1 2 0 と被覆 3 2 2 との間隙に、分離用流路 1 1 2 の延在方向に延在する捕捉部 3 0 0 が形成されている。このような構成とすれば、さらに簡便な構造で、試料中の特定成分を安定的に分離することができる。

<分析システム>

次に、図 27 を参照して、第一～第五の実施の形態で説明した分離装置 100 を含む分析システムの構成を説明する。図 27 に示すように、分離システムは、試料導入部、検出部、解析－出力部を備えた分析装置に、上記実施の形態のいずれかの分離装置が組み込まれて構成される。分析対象の試料は、
5 分析装置の試料導入部に導入され、本件の分離装置で成分に分離される。これらの分離された成分は、検出部で検出される。このようにして得られた検出結果は、解析－出力部で解析され、解析データが出力される。

上記分析装置は、たとえば図 28 に示すように、反応部および試薬群保持部をさらに含むこともできる。本件の分離装置で分離された試料中の各成分
10 は反応部に送られ、試薬群保持部から供給された発色試薬等と混合される。この反応部における反応結果は検出部にて検出される。このようにして得られた検出結果は解析－出力部で解析され、解析データが出力される。ここで、上記反応部における反応が、例えば発色反応や発光反応であり、目視にて検出、測定が可能である場合には、検出測定部を省略することができる。

15 上記分析装置は、たとえば図 29 に示すように、検出部および解析－出力部にかえて回収部を含むことができる。本件の分離装置で分離された試薬中の各成分は回収部で回収される。

さらに、上記分析装置は、たとえば図 30 に示すように、解析－出力部にかえて、分離判定部および回収部を含むことができる。本件の分離装置で分離された試料中の各成分は検出部で検出され、検出結果に基づき、分離判定部で分離状態や目的成分の同定が行われる。分離判定部での判定結果は回収部に伝達され、回収部は目的成分を回収する。

さらに、上記分析装置は、図 40 に示すように質量分析システムとして機能する構成とすることもできる。図 40 (a) は本実施の形態の質量分析システム (MS 分析装置) の基本構成を示す図である。本実施の形態の分析システムは、注入部、イオン化部、分析部、検出部および解析部を備えた分析装置に、例えば上記実施の形態のいずれかの分離装置が組み込まれて成っている。分析対象の試料は、上記分離装置に導入されて被検出成分と不要成分

25

とに分離される。この被検出成分は上記分析装置の注入部に導入され、イオン化部に送られてイオン化される。イオン化された被検出成分は図のように順次、分析部、検出部で分析、検出される。こうして得られたデータは解析部にて解析され、当該解析データがアウトプットされる。

- 5 また、分析システムは、図40(b)に示すように、GC部を備えた構成とすることができ、これにより、GC-MS分析装置とすることができる。さらに、分析システムは、図40(c)に示すように、リザーバーおよびLC装置を備えた構成とすることができ、これにより、LC-MS分析装置とすることができる。図40(c)においては、比較的多くの被検出成分をLC
- 10 装置に供する目的でリザーバーを設けているが、必ずしも備える必要はない。また、図40(b)においてはリザーバーを設けていないが、GC部の前にリザーバーを設けてもよい。

ここで、試料は特に限定されないが、例えば血液、組織抽出物などを挙げることができる。

- 15 以上で説明した分析システムの全構成要素、またはたとえば試料導入部、本件の分離装置、反応部、試薬保持部、回収部等の一部の構成要素は分析チップに設けることができる。

- 20 以上の第一～第五の実施の形態において、分離装置100は、電界を印加することによって試料を移動させるとして説明したが、電界の印加に代え、圧力を加える方式を採用することもできる。図31はこのような装置の一例である。分離用チップの投入用流路と分離用流路の端にある液溜め部分には、ジョイントメスが固着してある。それぞれのジョイントメスには、中空のチューブ13、14、15、16がつながれた、ジョイントオスを接続する。ジョイントを用いる理由は、液漏れを防ぐためである。ジョイントの具体的
- 25 な構造は、たとえば図32のようにする。

ジョイントオスにつながれた各チューブは、それぞれ電磁弁10、4、5、11に接合されている。電磁弁10には、分離用ポンプ8、定速注入装置9を介して、液溜め7からバッファーが供給される。電磁弁4には、投入用ポ

ンプ 2、定速注入装置 3 を介して、サンプル溜め 1 からサンプルが供給される。電磁弁 5 には、投入用流路 19 を介して送られてきたサンプルが供給され、廃液溜め 6 へと導かれる。電磁弁 11 には、分離用流路 20 を介して分離されたサンプルが供給され、オートサンプラー 12 にて回収される。

- 5 制御ユニット 21 は、電磁弁 4、5、10、11、および分離用ポンプ 8、投入用ポンプ 2、定速注入装置 9、定速注入装置 3、の稼動時点を制御する。

この装置を用いた分離回収手順は以下のとおりである。まず、電磁弁 10、電磁弁 11 を閉じる。これにより投入用流路 19 からサンプルが分離用流路 20 に流入することを防止できる。ついで電磁弁 4、電磁弁 5 を開く。そして、サンプル溜め 1 にサンプルを投入する。

次に投入用ポンプ 2 でサンプルを加圧し、サンプルを、定速注入装置 3、電磁弁 4、チューブ 14 を介して、投入用流路 19 へ導く。投入用流路 19 を介して漏出したサンプルは、チューブ 15、電磁弁 5 を通って、廃液溜め 6 に導かれる。

- 15 投入用流路 19 にサンプルが満たされた後、電磁弁 4、電磁弁 5 を閉じ、電磁弁 10、電磁弁 11 を開く。つづいて分離用ポンプ 8 でバッファーを加圧し、定速注入装置 9、電磁弁 10、チューブ 13 を介してサンプルを分離用流路 20 へ導く。こうして分離操作が開始する。分離用流路 20 の先から分離された物質がバッファーとともにチューブ 16、電磁弁 11 を介して出てくるので、これをオートサンプラー 12 で定時的に回収する。

こうした手順により、サンプルの分離が行われる。この装置では、試料を移動させるための外力として圧力を利用しているため、比較的簡素な外力付与装置を設ければ済むので、製造コストの低減、装置の小型化に有利である。

- 25 また、図 1 に示した分離装置 100 において、毛細管現象を利用して試料を移動させる方式を採用することもできる。この場合、電力、圧力等の外力の印加が不要で駆動のためのエネルギーが不要となる。

(実施例 1)

図 6 および図 7 を参照して説明したのと同様に、図 1 および図 4 に示した

分離装置 100 を作成した。図 33 は、電子顕微鏡写真による本発明の分離装置 100 の分離用流路 112 の上面図を示す。ここで、間隔 p は約 700 nm、間隔 q は約 $2\ \mu\text{m}$ 、間隔 r は約 $1.2\ \mu\text{m}$ である。このように構成された分離用流路 112 を含む分離装置 100 を用いて、分子量マーカーの分離を行った。分子量マーカーとしては、Lambda DNA-Hind III Digest (タカラバイオ株式会社製) および phiX-174 RF DNA-Hae III Digest (タカラバイオ株式会社製) を用いた。Lambda DNA-Hind III Digest および phiX-174 RF DNA-Hae III Digest は、それぞれ、図 34 (a) および図 34 (b) に示すフラグメントを有する。

10 図 35 は、分子量マーカーとして Lambda DNA-Hind III Digest を用いた場合の分離結果を示す。図 35 (b) は、図 35 (a) のデータをスムージングしたものである。図 35 (b) に示すように、23 kbp、9.4 kbp、6.6 kbp、4.4 kbp、2.3 kbp 以下のピークが検出された。

15 図 36 は、分子量マーカーとして phiX-174 RF DNA-Hae III Digest を用いた場合の分離結果を示す。図 36 (b) は、図 36 (a) のデータをスムージングしたものである。図 36 (b) に示すように、1.4 kbp、1.1 kbp、872 bp、603 bp、310 bp 以下のピークが検出された。

(参照例)

20 また、参照例として、図 37 に示すような複数の柱状体を有する分離用流路を含む分離装置を用いて Lambda DNA-Hind III Digest および phiX-174 RF DNA-Hae III Digest の分離を行った。ここで、間隔 h は約 $1.1\ \mu\text{m}$ 、間隔 i は約 400 nm である。この参照例では、複数の柱状体が等間隔で配置されている。

25 図 38 は、分子量マーカーとして Lambda DNA-Hind III Digest を用いた場合の分離結果を示す。図 38 (b) は、図 38 (a) のデータをスムージングしたものである。図 38 (b) に示すように、23 kbp、9.4 kbp ~ 6.6 kbp、4.4 kbp、2.3 kbp 以下のピークが検出された。

図 39 は、分子量マーカーとして phiX-174 RF DNA-Hae III Digest を用い

た場合の分離結果を示す。図39(b)は、図39(a)のデータをスムージングしたものである。図39(b)に示すように、1.4 kbp~603 b pのピークがブロードになり、分離されなかった。

Lambda DNA-Hind III Digest を用いた実施例の図35および参照例の図38を比較すると、実施例の分離装置100では、23 kbp、9.4 kbp、6.6 kbp、4.4 kbp、2.3 kbp以下のピークがきれいに分離したが、参照例の分離装置では9.4 kbp、6.6 kbpのピークがブロードになり、分離されなかった。同様に phiX-174 RF DNA-Hae III Digest を用いた実施例の図36および参照例の図39を比較すると、実施例の分離装置100では、1.4 kbp、1.1 kbp、872 bp、603 bp、310 bp以下のピークがきれいに分離したが、参照例の分離装置では1.4 kbp~603 bpのピークがブロードになり、分離されなかった。

(実施例2)

本実施例では、楔型チップの作製とこれを用いたタンパク質の分離を行った。図6および図7を参照して説明したのと同様に、図1および図4に示した分離装置100を作製した。サイズは図33において、間隔pを約600 nm、間隔qは約1.5 μ m、間隔rは約1.2 μ mとした。このように構成された分離用流路112を含む分離装置100を用いて、タンパク質サンプルの分離および検出を行った。

2種類のタンパク質サンプル(97 kDおよび31 kD)について、SDSを含有する水溶液中で100℃7分煮沸後、氷中で急冷して変性処理した。次に蛍光色素SYPRO ORANGE (Molecular Probes社製)を1/1000量添加し、1時間染色処理した。次に、TBLバッファ(0.1 M トリス+0.25 M ホウ酸+0.6% Lipidure HM (日本油脂社製))で全流路をコーティング後、染色済みタンパク質サンプルをTBLバッファと混合した物を用いて分離を行った。分離は電位差(120 V)を印加して行った。また、タンパク質の蛍光強度を測定することにより、分離されたタンパク質の検出を行った。

図 4 3 は、タンパク質の分離結果を示す図である。図 4 3 において、蛍光強度はインジェクション部から 7 mm の地点で測定し、プロットした。2 種類各々の濃度比を変更しながら観察し、ピーク A が 9 7 k D タンパク質であり、ピーク B が 3 1 k D タンパク質であることを確認した。このように、本
5 実施例の分離装置を用いることにより、変性タンパク質をサイズにより分離し、これらを検出することができた。

以上のように、実施例の分離装置 1 0 0 によれば、種々のサイズの分子を精度よく分離することができた。

以上、本発明の実施の形態について説明したが、それぞれの実施の形態で
10 用いた構成を任意に組み合わせることもできる。

請 求 の 範 囲

1. 試料の通る流路と、
前記流路の壁部と、
該流路中に設けられた試料分離領域と、
5 を備え、
前記試料分離領域において、前記壁部に、前記試料中の特定成分を捕捉する捕捉部が設けられたことを特徴とする分離装置。
2. 請求の範囲第1項に記載の分離装置において、複数の前記捕捉部が設けられたことを特徴とする分離装置。
- 10 3. 請求の範囲第1項または第2項に記載の分離装置において、前記捕捉部は、前記流路の延在方向に対して垂直な方向に、幅狭に形成されたことを特徴とする分離装置。
4. 請求の範囲第1項乃至第3項いずれかに記載の分離装置において、
前記捕捉部は、前記流路の中心から遠ざかるにつれて開口幅が狭くなるよ
15 うに形成されていることを特徴とする分離装置。
5. 請求の範囲第1項乃至第4項いずれかに記載の分離装置において、
前記捕捉部は、前記壁部に設けられたくぼみ部であることを特徴とする分離装置。
6. 請求の範囲第1項乃至第5項いずれかに記載の分離装置において、
20 基板の表面に形成され、開口部を有する前記流路と、
前記開口部を被覆する蓋部と、
を有し、
前記蓋部が前記壁部の一部をなし、
前記基板と前記蓋部との間隙部が前記捕捉部を構成することを特徴とする
25 分離装置。
7. 請求の範囲第6項に記載の分離装置において、前記蓋部にくぼみ部が設けられたことを特徴とする分離装置。
8. 請求の範囲第1項乃至第7項いずれかに記載の分離装置において、

前記壁部の壁面が、前記捕捉部に対して凸曲面を有することを特徴とする分離装置。

9. 請求の範囲第1項乃至第7項いずれかに記載の分離装置において、

前記壁部の壁面が、前記捕捉部に対して凹曲面を有することを特徴とする

5 分離装置。

10. 請求の範囲第1項乃至第9項いずれかに記載の分離装置において、

前記流路の下流側において、上流側よりも大きい前記捕捉部が形成されたことを特徴とする分離装置。

11. 請求の範囲第1項乃至第10項いずれかに記載の分離装置において、

10 前記流路の下流側において、上流側に形成された前記捕捉部の開口幅よりも広い開口幅を有する前記捕捉部が形成されたことを特徴とする分離装置。

12. 請求の範囲第1項乃至第11項いずれかに記載の分離装置において、

前記流路の下流側において、上流側に形成された前記捕捉部の奥行きよりも小さい奥行きを有する前記捕捉部が形成されたことを特徴とする分離装置。

15 13. 試料の通る流路と、

前記流路の壁部と、

該流路中に設けられた試料分離領域と、

を備え、

前記試料分離領域において、前記流路は、複数の幅広部を有し、前記幅広

20 部は前記試料分離領域の他の領域よりも幅が広く形成されたことを特徴とする分離装置。

14. 請求の範囲第1項乃至第13項いずれかに記載の分離装置において、

前記流路は、試料の流れる方向に沿って広幅部および狭幅部を交互に有することを特徴とする分離装置。

25 15. 試料の通る流路と、

該流路中に設けられた試料分離領域と、

を備え、

前記試料分離領域において、前記流路は、隔壁と、前記隔壁により分断さ

れた複数の並行流路と、各前記複数の並行流路の側方において、前記隔壁に形成され、前記試料中の特定成分を捕捉する複数の捕捉部と、を含むことを特徴とする分離装置。

16. 請求の範囲第15項に記載の分離装置において、

5 複数の前記並行流路間を連通する複数の連通部が前記隔壁に形成されたことを特徴とする分離装置。

17. 請求の範囲第1項乃至第16項いずれかに記載の分離装置において、前記試料分離領域において、前記試料に対して前記流路の幅方向に外力を付与する幅方向外力付与手段をさらに備えたことを特徴とする分離装置。

10 18. 試料の通る流路と、該流路中に設けられた試料分離領域とをそれぞれ複数と、

前記試料に対して前記流路の長さ方向に外力を付与して前記試料を前記複数の流路において異なる速度で移動せしめる外力付与手段と、

を備えたことを特徴とする分離装置。

15 19. 請求の範囲第1項乃至第18項いずれかに記載の分離装置において、前記流路は、基板上に形成された溝部であって、

当該分離装置は、前記流路に試料を導く試料導入部と、前記流路中に設けられた、試料を複数の成分に分離する試料分離領域と、前記試料分離領域で分離された試料を分析または分取する試料回収部と、をさらに備えたことを

20 特徴とする分離装置。

20. 特定成分を検出するための分析システムであって、請求の範囲第1項乃至第19項いずれかに記載の分離装置と、当該分離装置により分離された前記特定成分を検出するための検出部と、を含むことを特徴とする分析システム。

25 21. 試料の通る流路中に、前記試料中の特定成分を捕捉する捕捉部が形成された試料分離領域を含む分離装置の製造方法であって、

基板上に前記流路となる溝部を形成し、前記溝部において、前記基板に複数のくぼみ部を形成する工程と、

複数の前記くぼみ部の表面を酸化して各前記くぼみ部の表面に酸化膜を成長させて前記捕捉部を形成する工程と、

を含むことを特徴とする分離装置の製造方法。

- 2 2. 試料の通る流路中に、前記試料中の特定成分を捕捉する捕捉部が形成された試料分離領域を含む分離装置の製造方法であって、

基板上に複数の柱状体が互いに間隔を隔てるように形成する工程と、

前記柱状体の側面を酸化して柱状体の側面に酸化膜を成長させ、前記柱状体間の間隔を狭くして隣り合う柱状体間に前記捕捉部を形成する工程と、

を含むことを特徴とする分離装置の製造方法。

- 2 3. 試料の通る流路中に、前記試料中の特定成分を捕捉する捕捉部が形成された試料分離領域を含む分離装置の製造方法であって、

基板表面にレジスト膜を形成する工程と、凹凸の設けられた成型面をレジスト膜に当接させた状態で加圧し、レジスト膜に凹凸形状を付与する工程と、

- 前記凹凸形状の凹部に形成されたレジスト膜を除去し、レジスト開口部を設ける工程と、

開口部の設けられたレジスト膜をマスクとして基板をエッチングし、前記捕捉部を形成する工程と、

を含むことを特徴とする分離装置の製造方法。

- 2 4. 試料の通る流路中に、前記試料中の特定成分を捕捉する捕捉部が形成された試料分離領域を含む分離装置の製造方法であって、少なくとも表面部分が樹脂材料により構成された基板に対し、凹凸の設けられた成型面を当接させた状態で加圧することにより、表面部分に前記捕捉部を形成することを特徴とする分離装置の製造方法。

- 2 5. 試料の通る流路中に、前記試料中の特定成分を捕捉する捕捉部が形成された試料分離領域を含む分離装置の製造方法であって、

基板の表面に、前記流路となる溝部を形成するとともに、前記溝部の表面にくぼみ部を形成する工程と、

前記試料分離領域において、前記基板上に被覆を配設し、前記くぼみ部と

前記被覆との間隙に前記捕捉部を形成する工程と、
を含むことを特徴とする分離装置の製造方法。

26. 請求の範囲第21項乃至第25項いずれかに記載の分離装置の製造方法において、複数の前記捕捉部を形成することを特徴とする分離装置の製造方法。
- 5

Fig.1

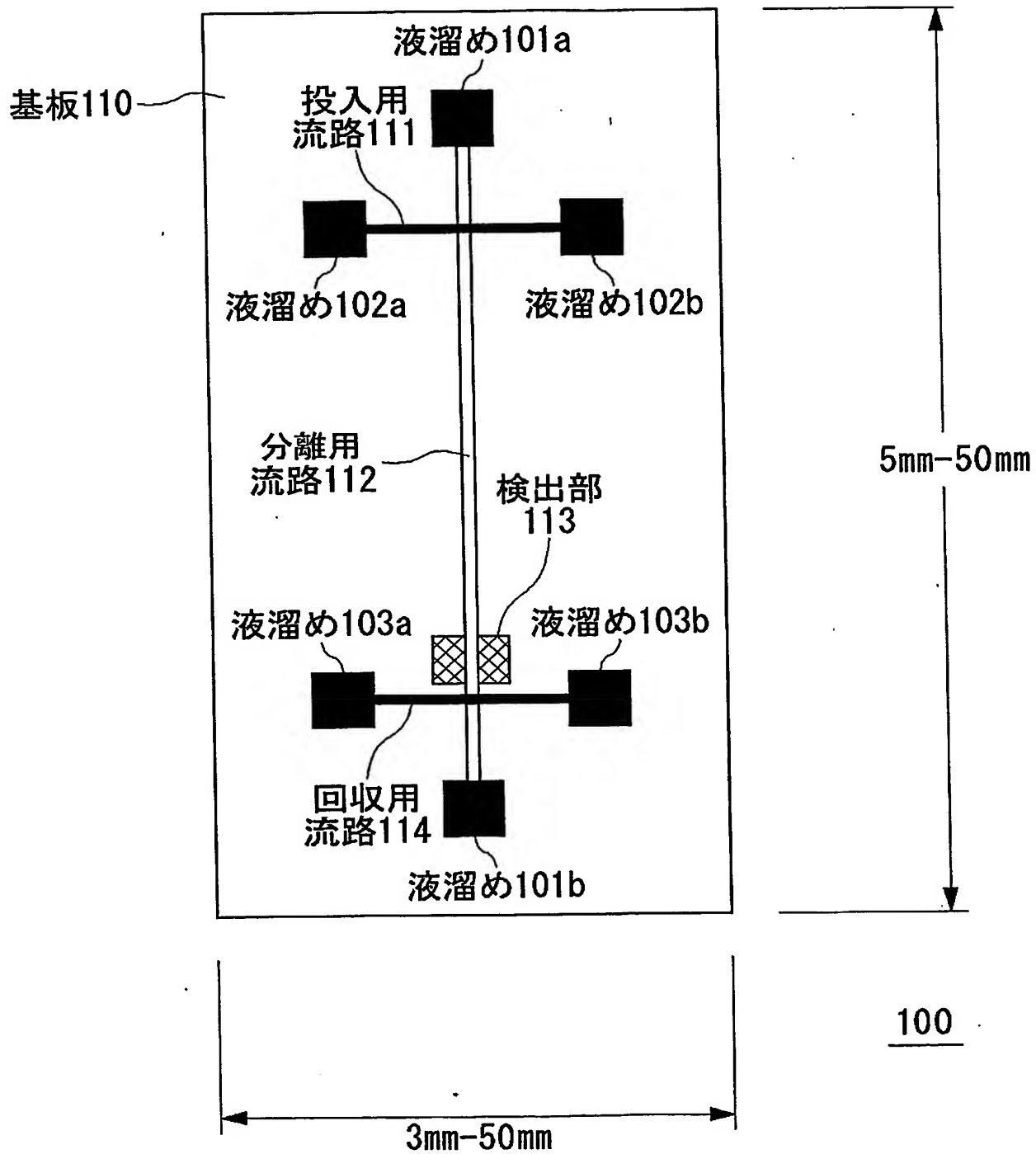


Fig.2

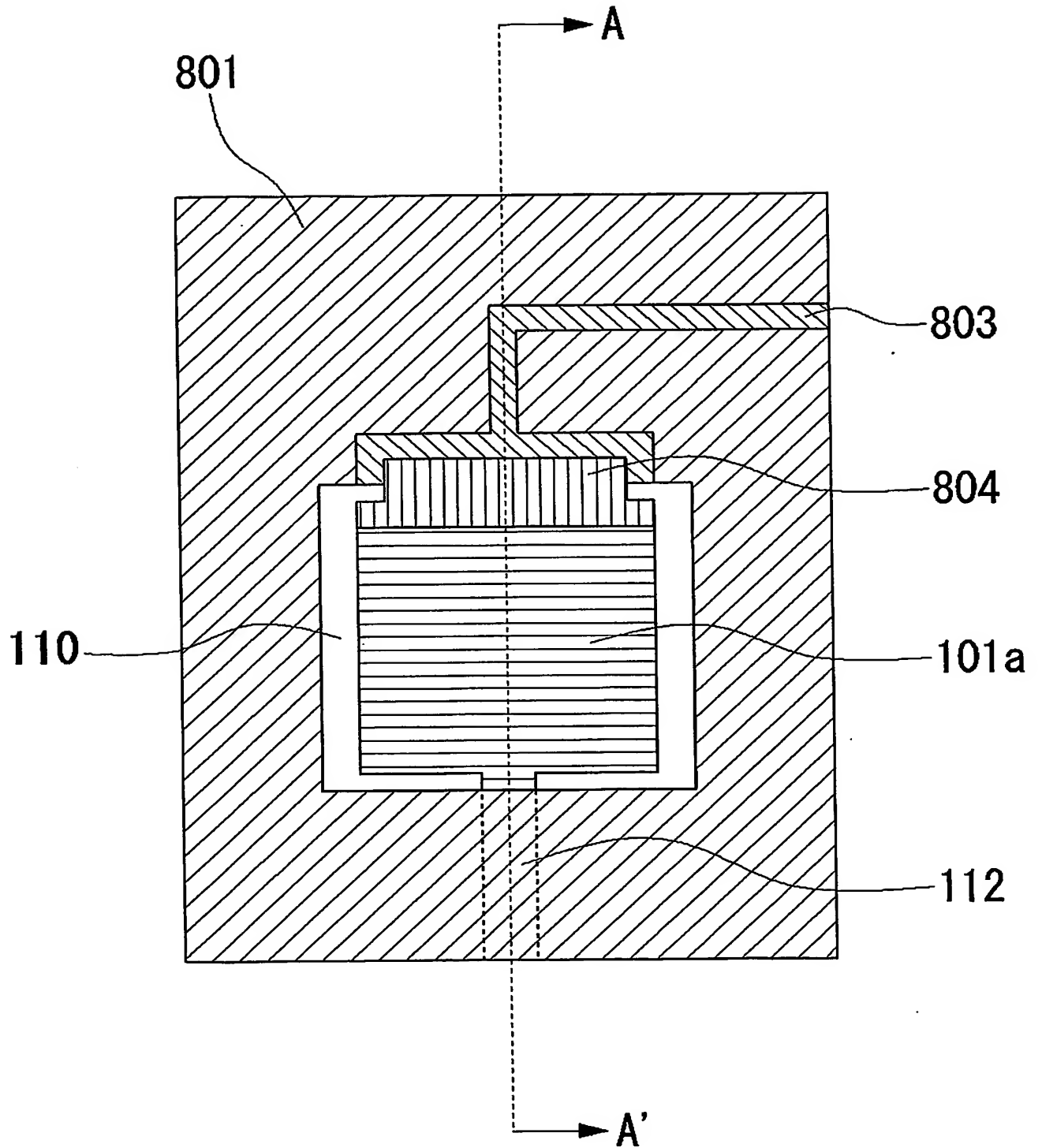


Fig.3

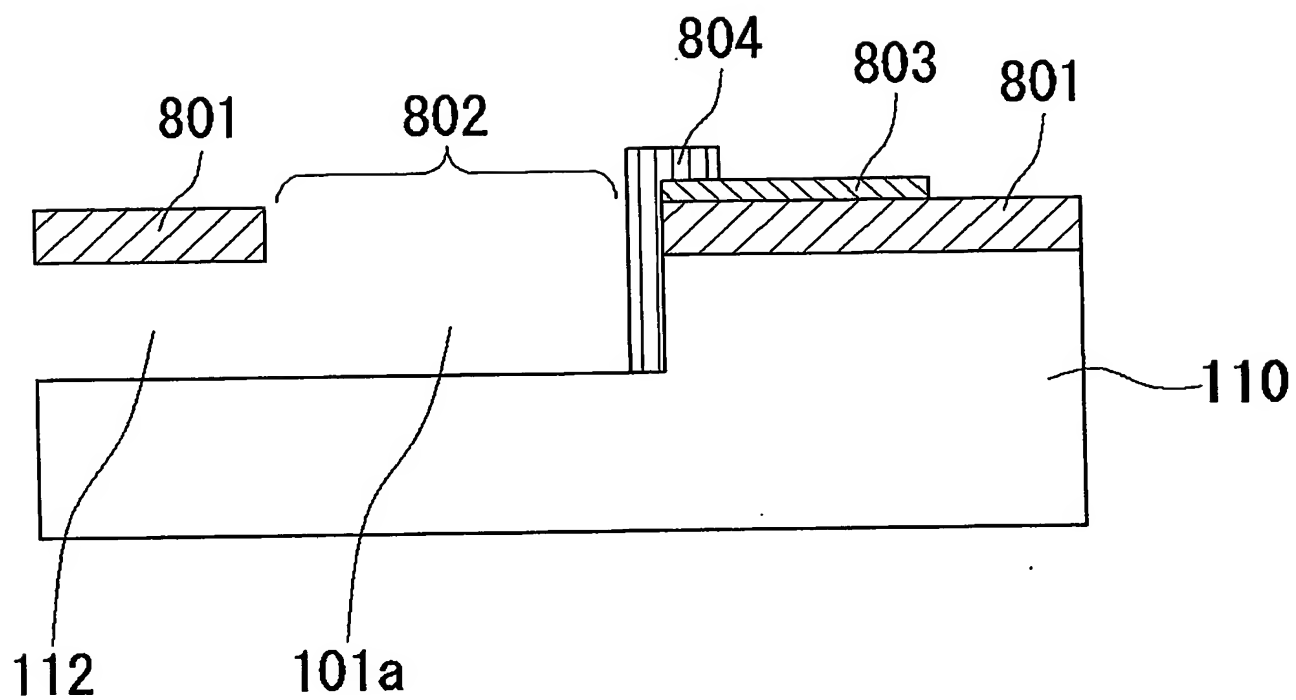


Fig.4

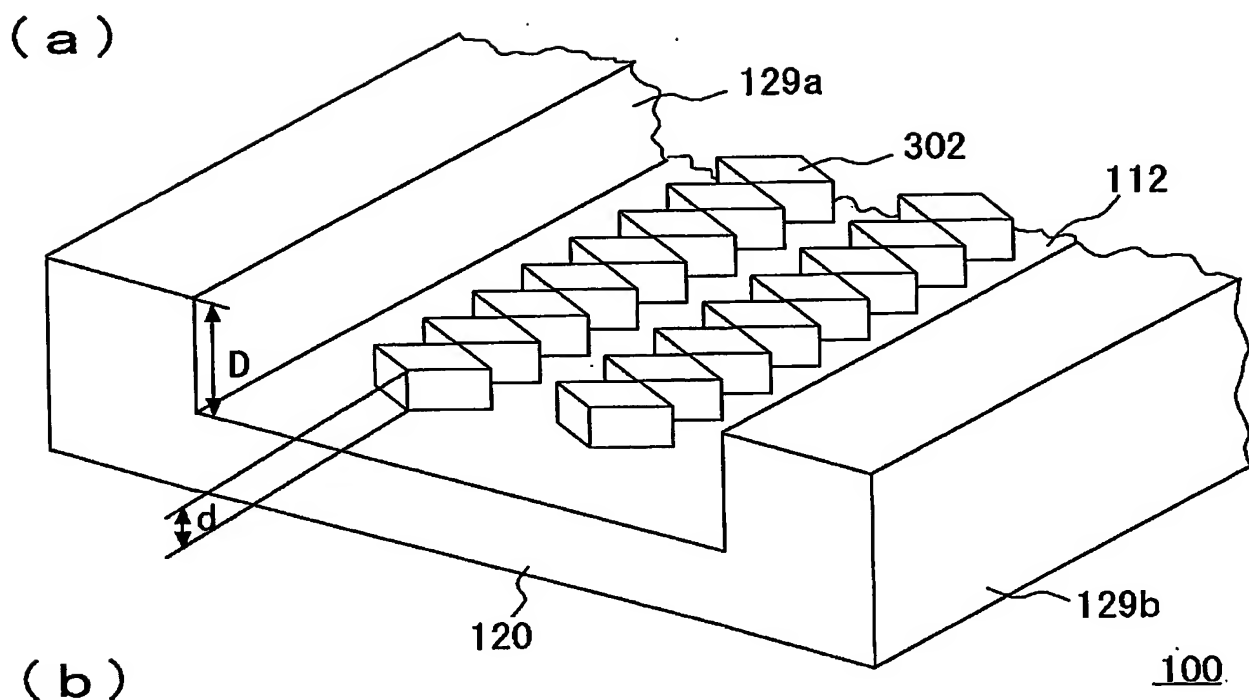


Fig.5

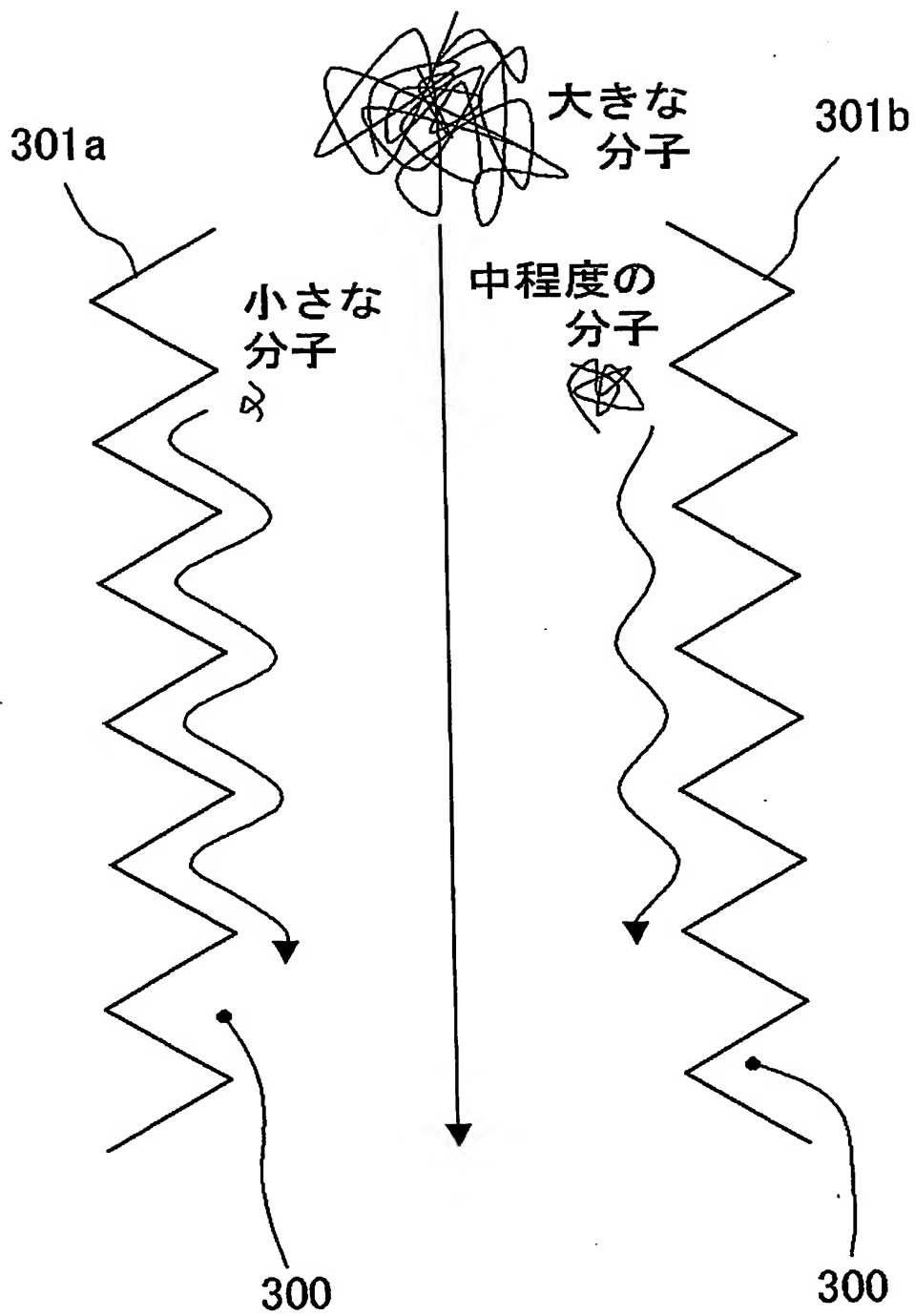


Fig.6

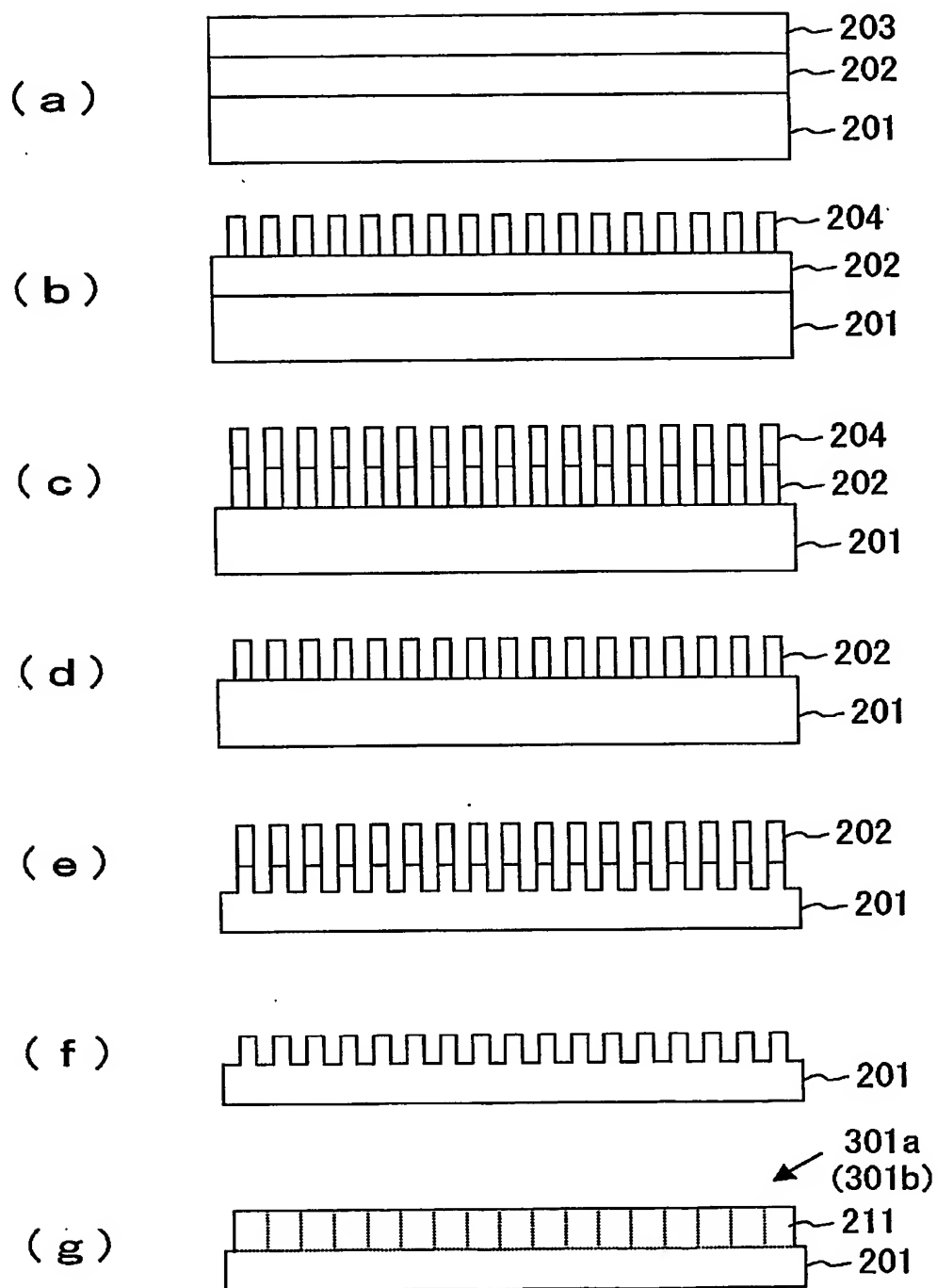


Fig.7

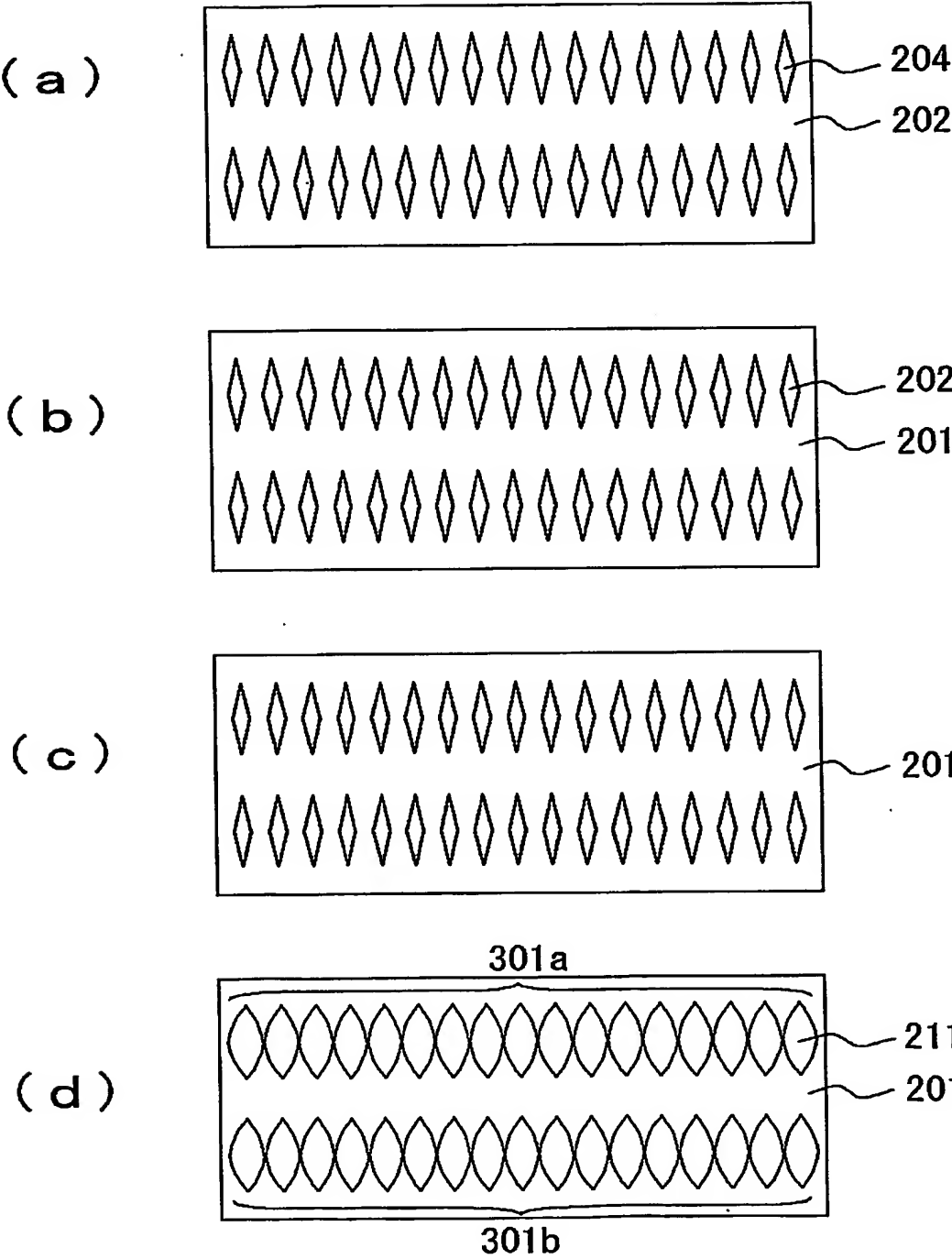


Fig.8

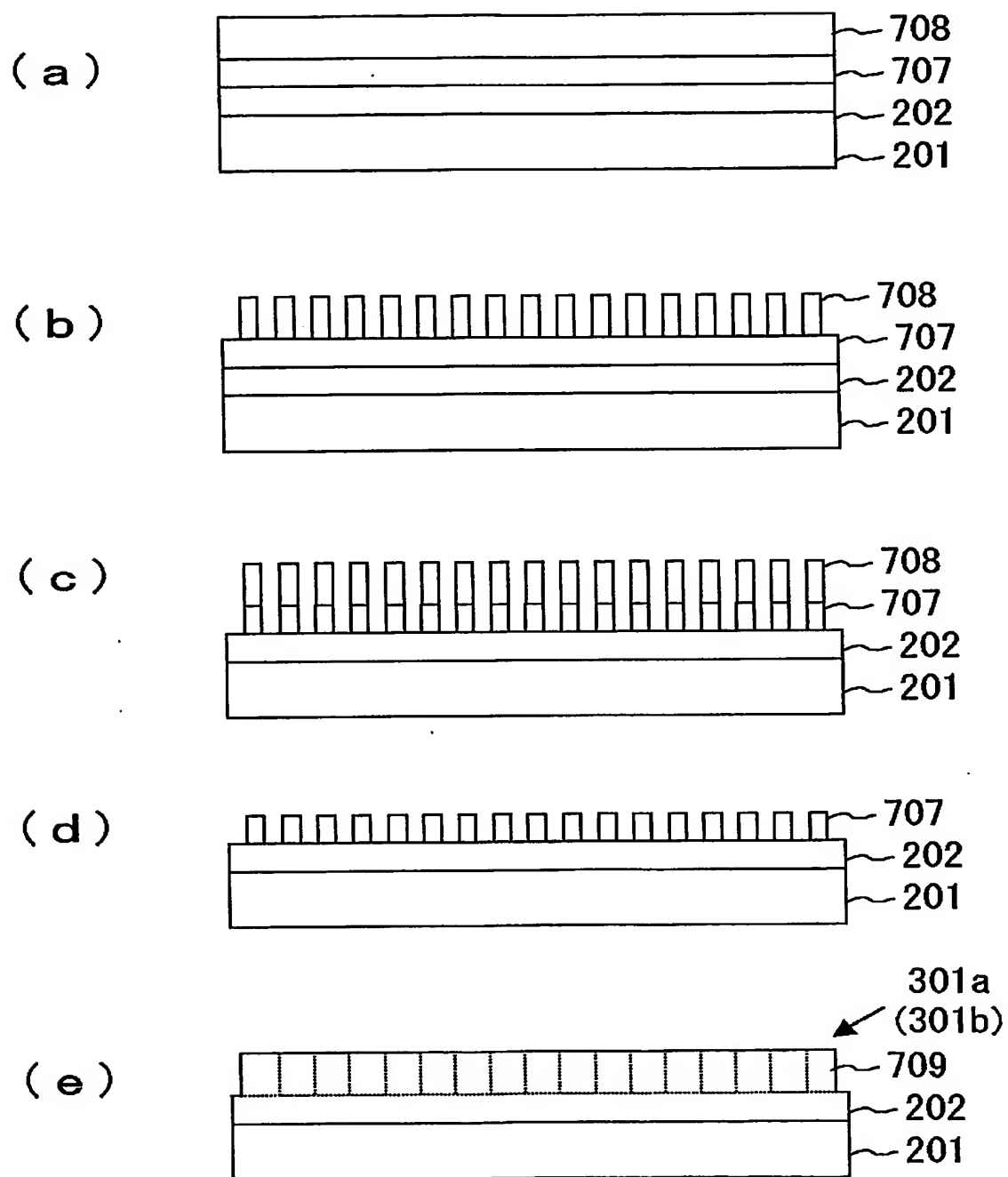


Fig.9

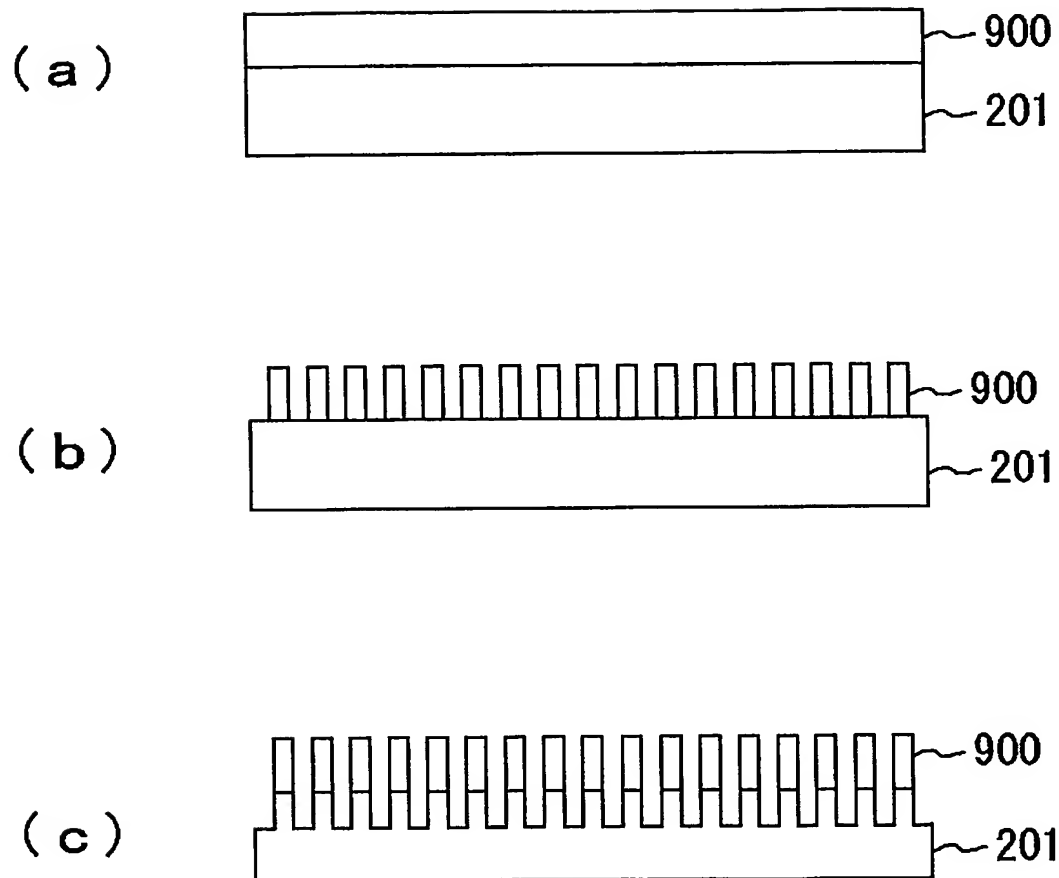


Fig.10

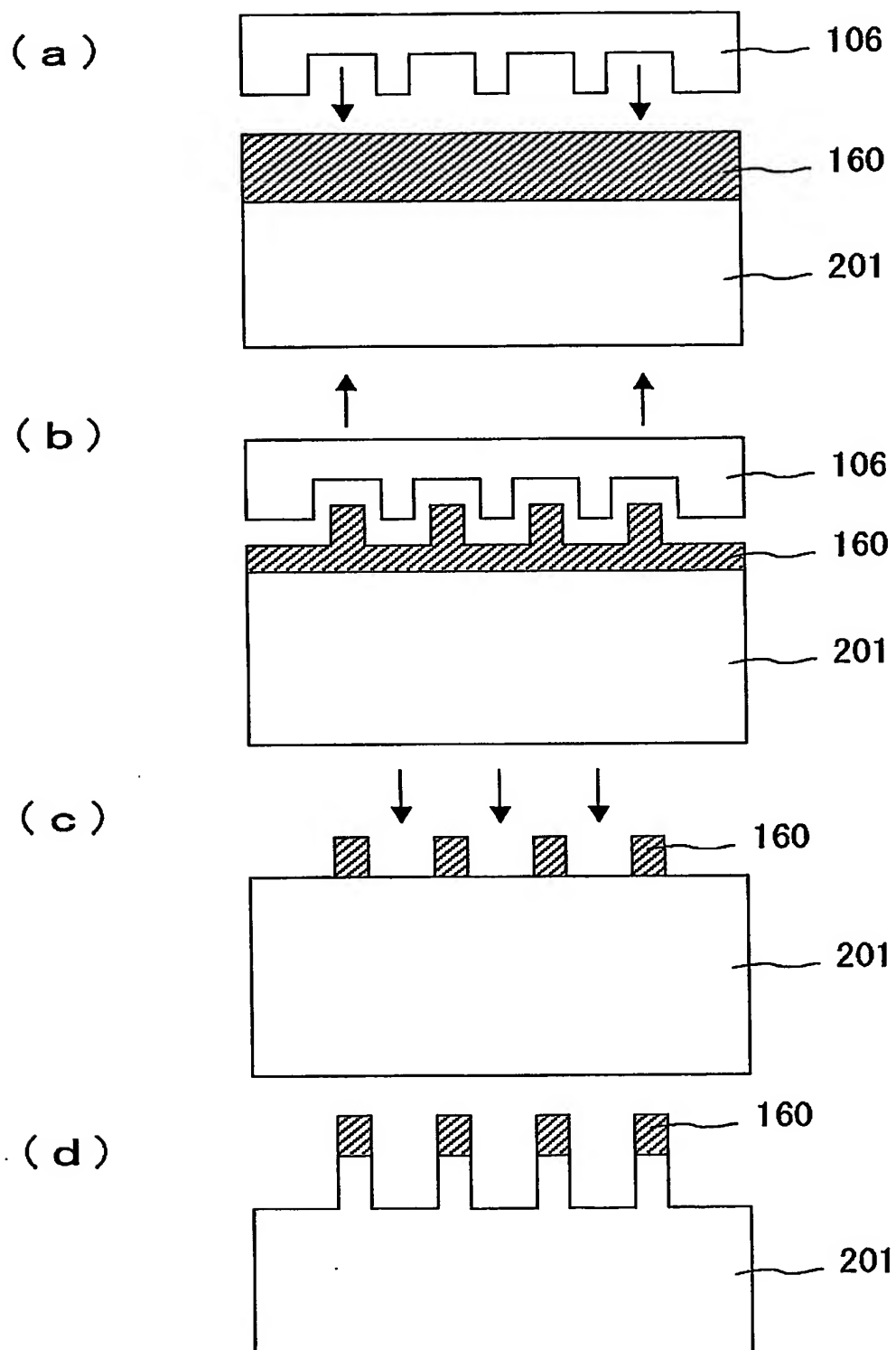


Fig.11

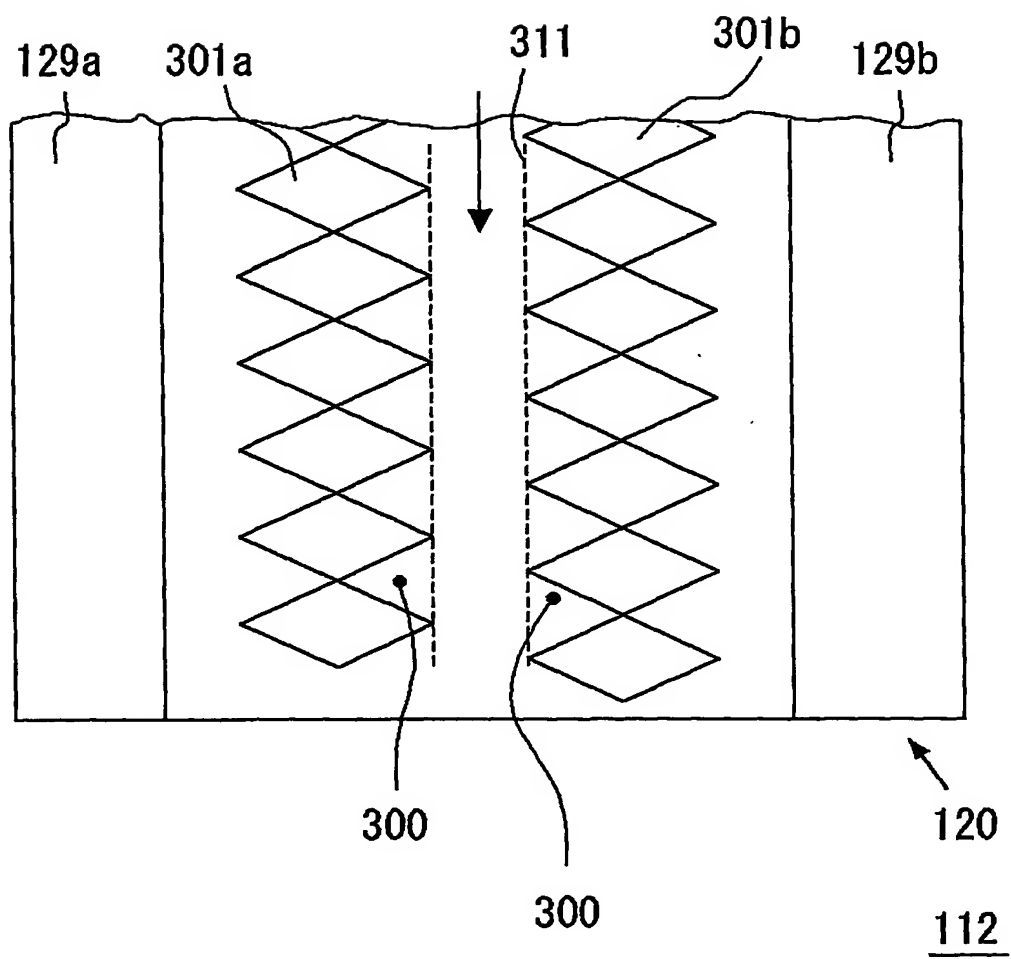
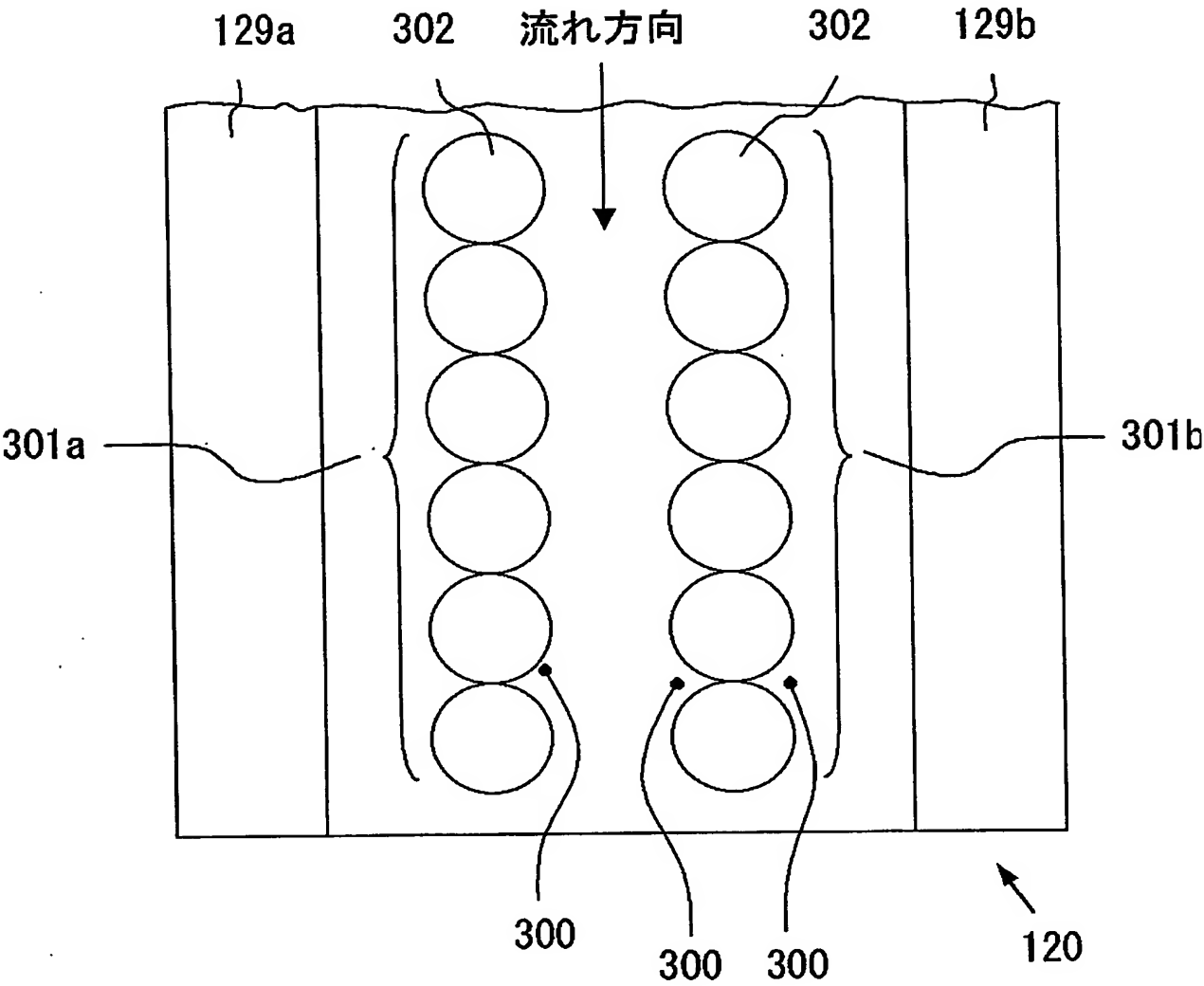
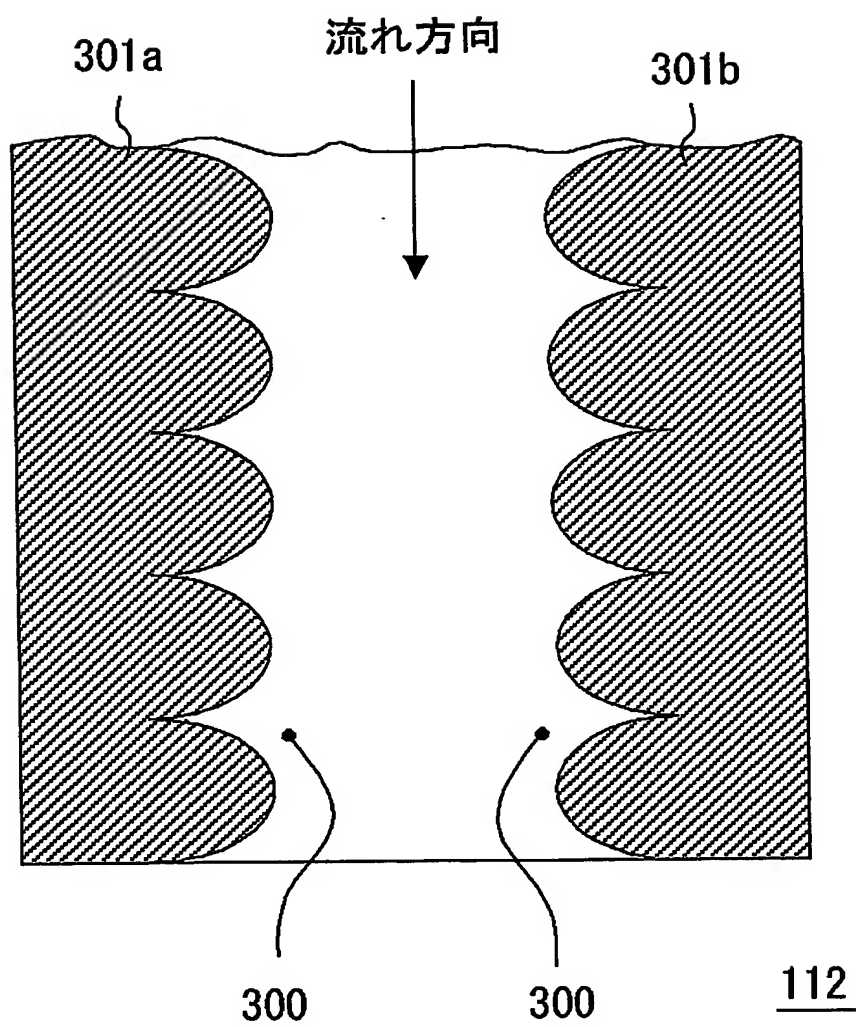


Fig.12



13 / 51

Fig.13



14 / 51

Fig.14

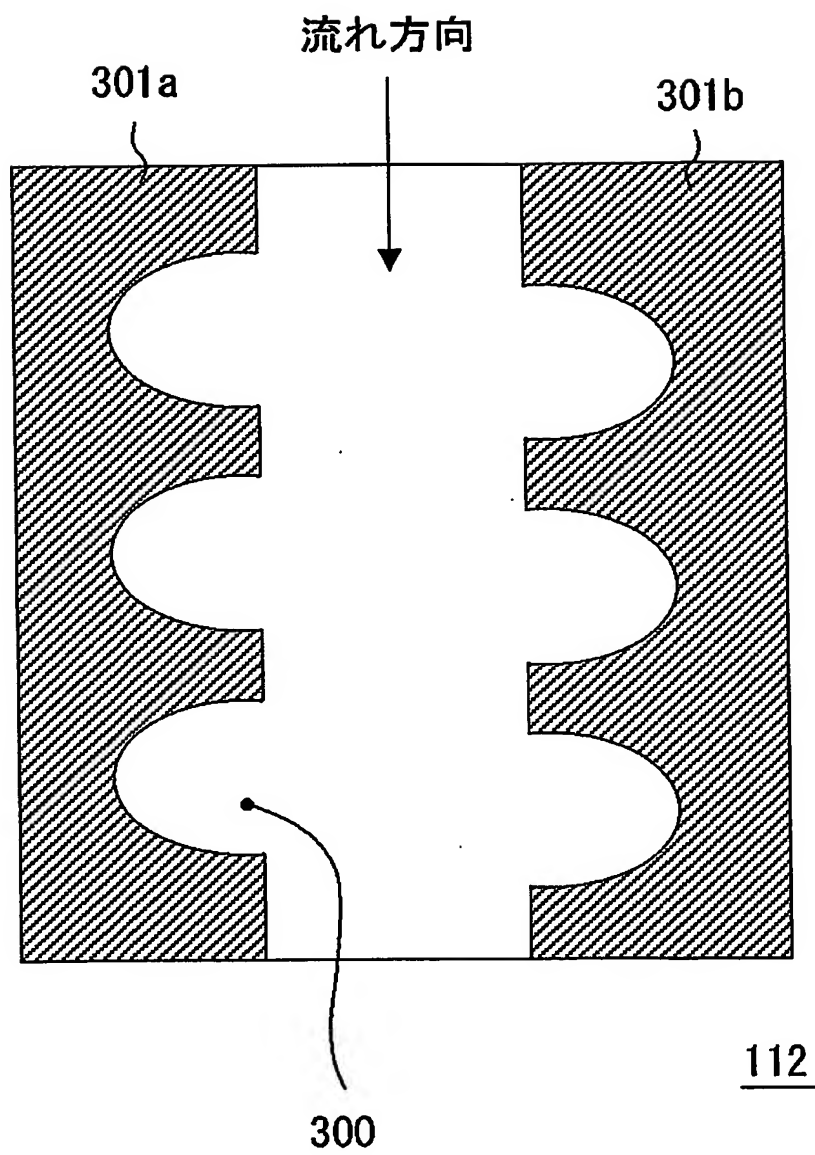


Fig.15

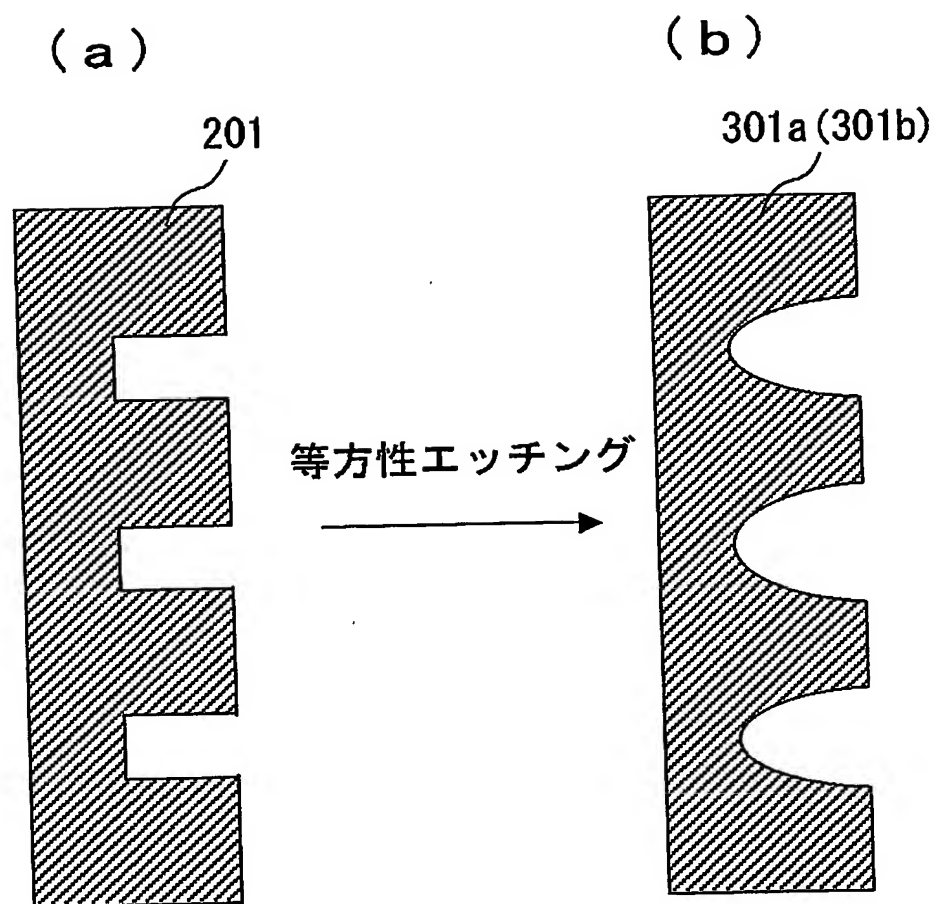


Fig.16

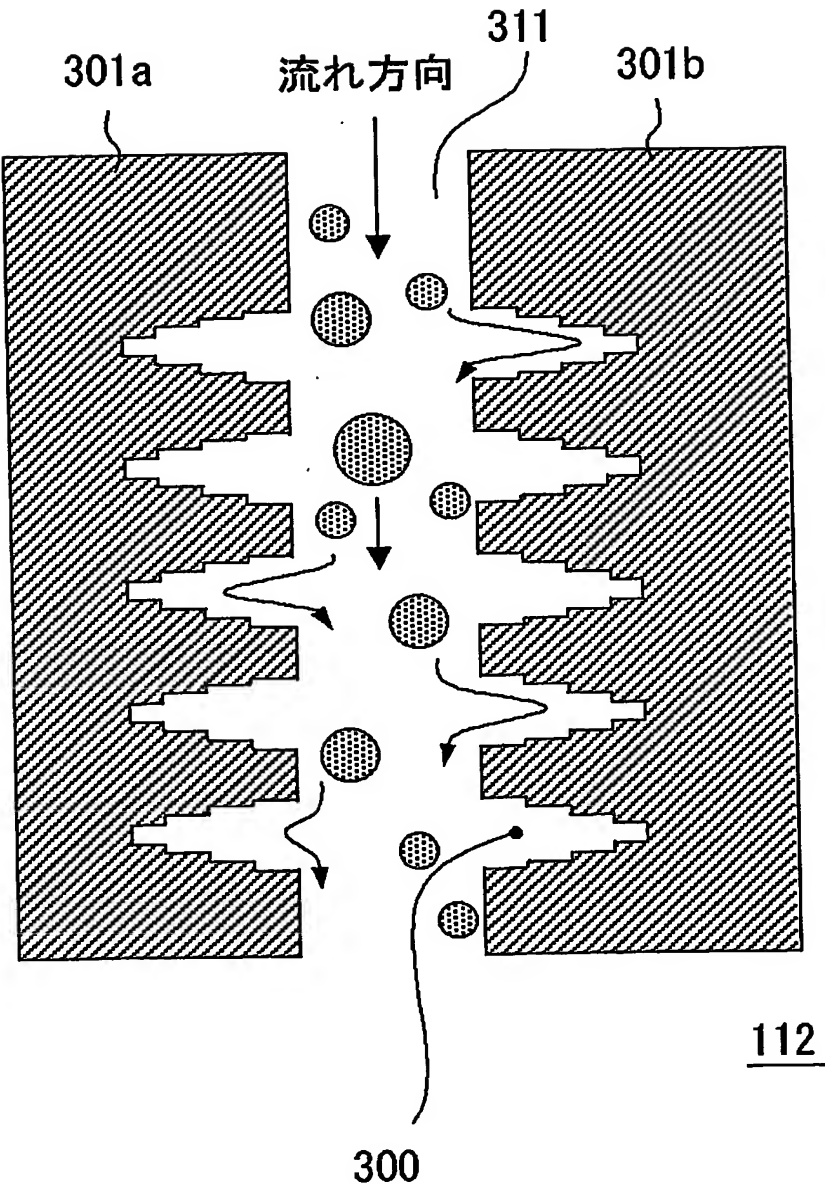


Fig.17

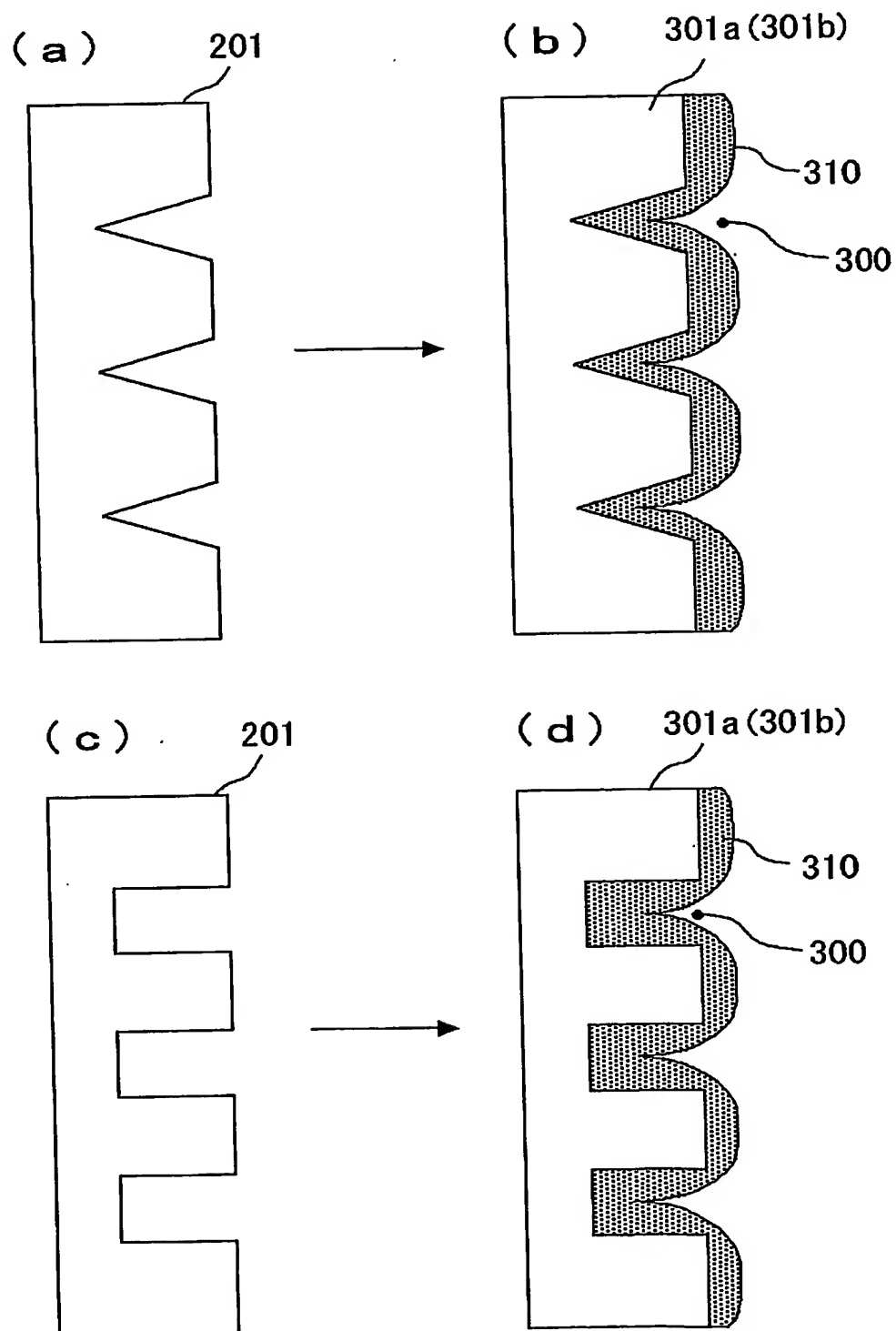


Fig.18

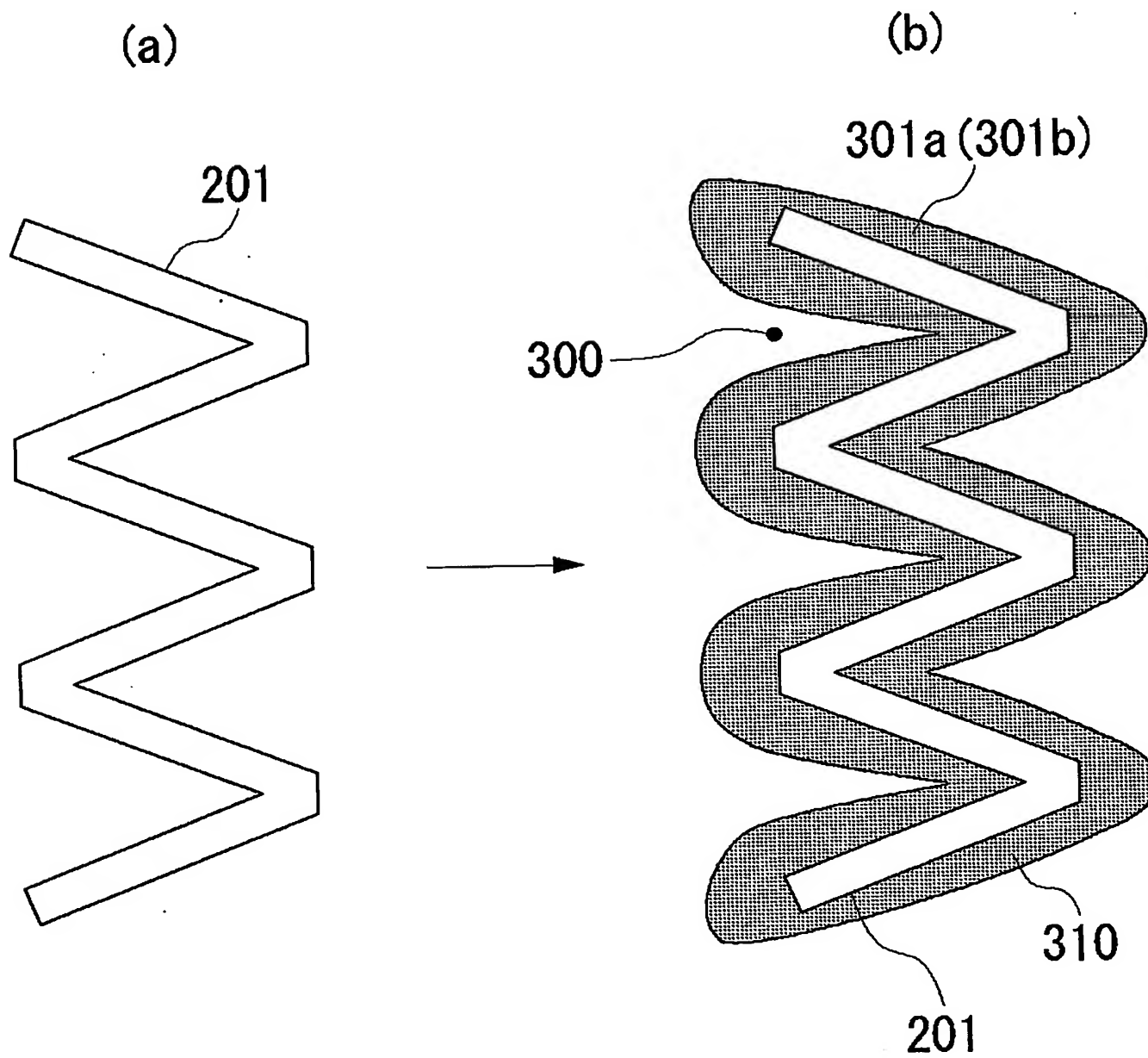


Fig.19

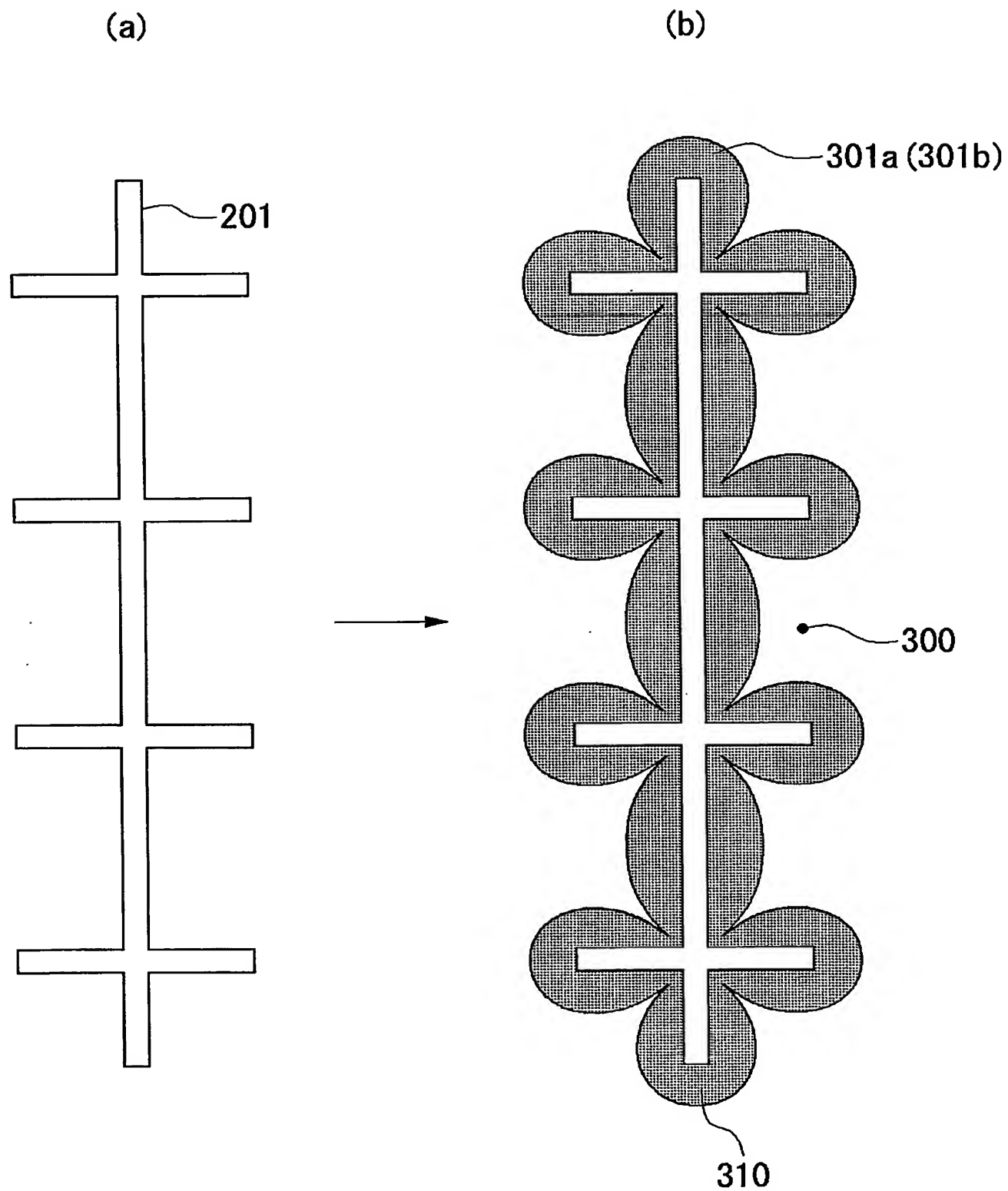
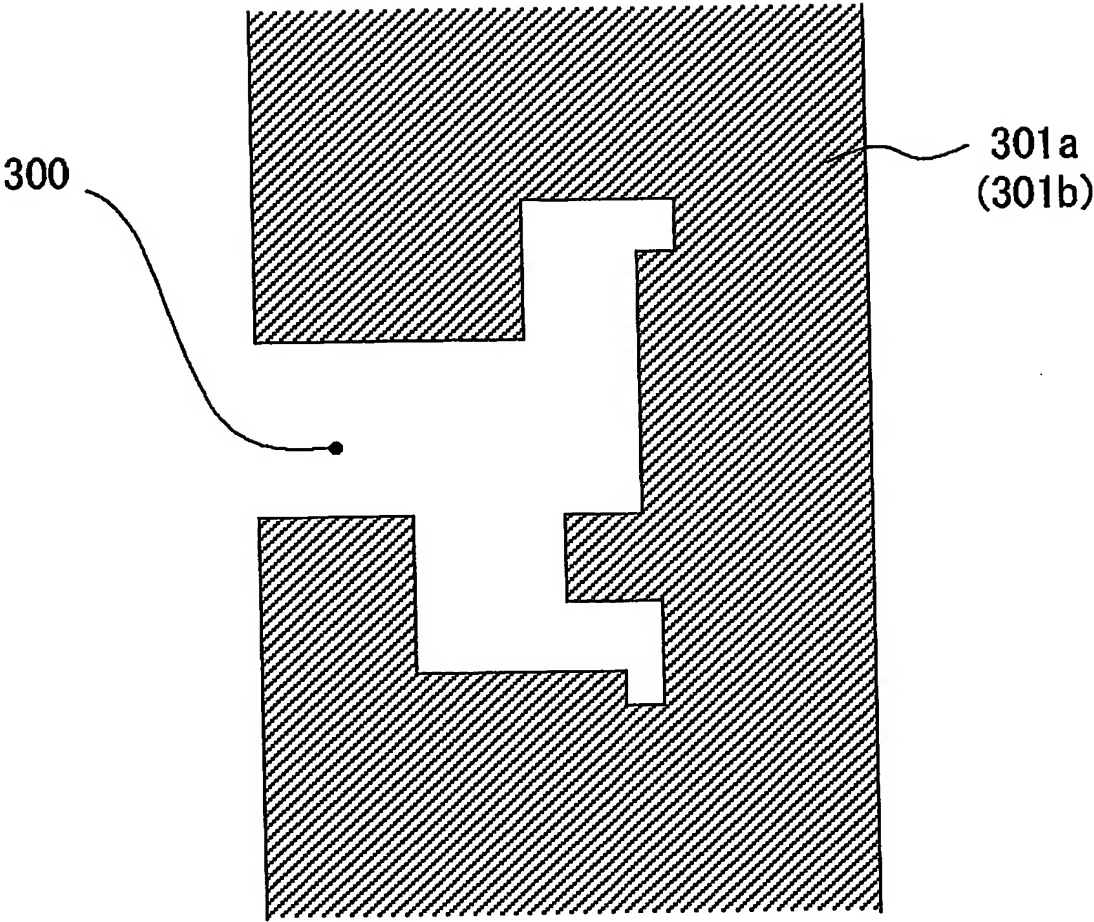
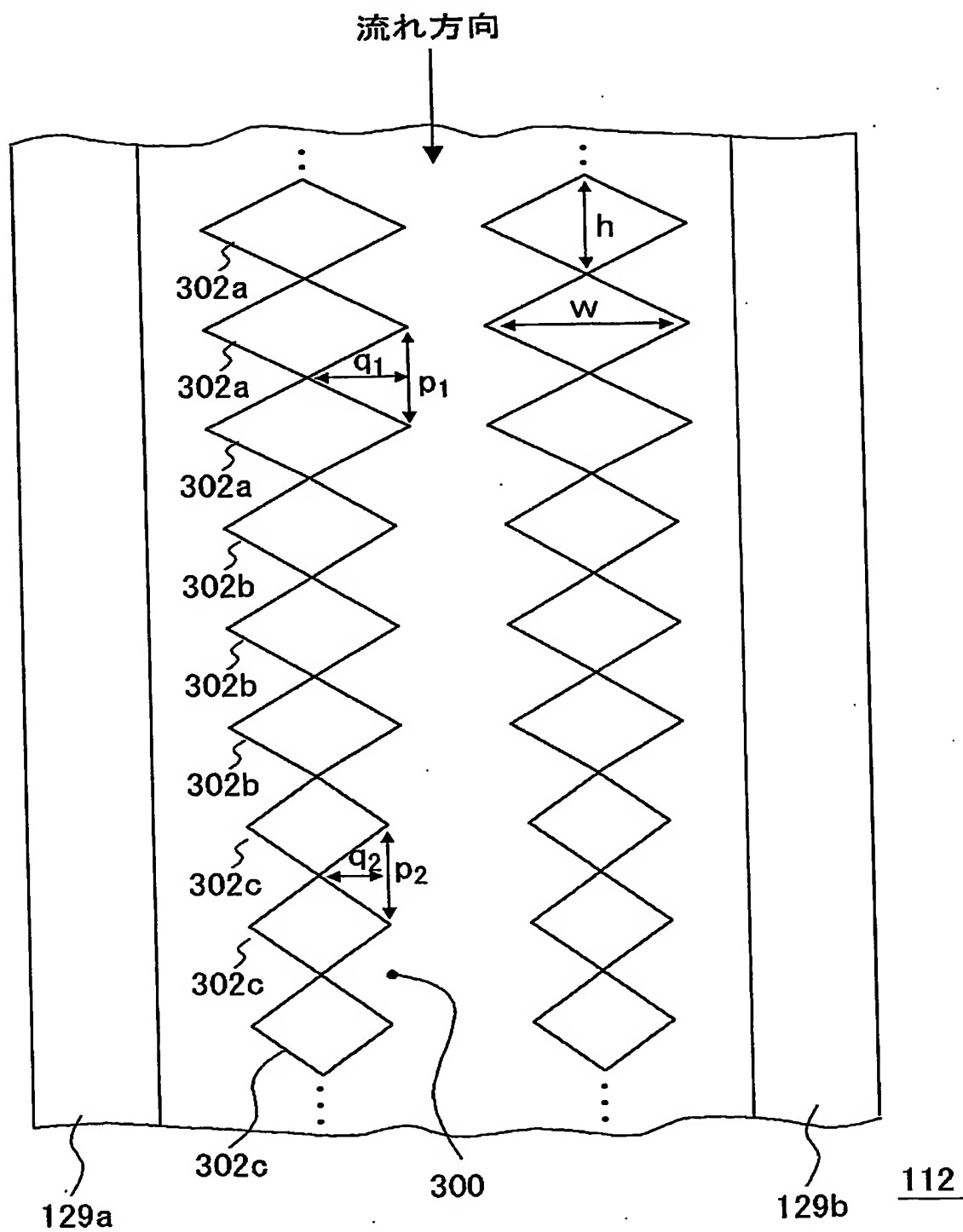


Fig.20



21 / 51

Fig.21



22 / 51

Fig.22

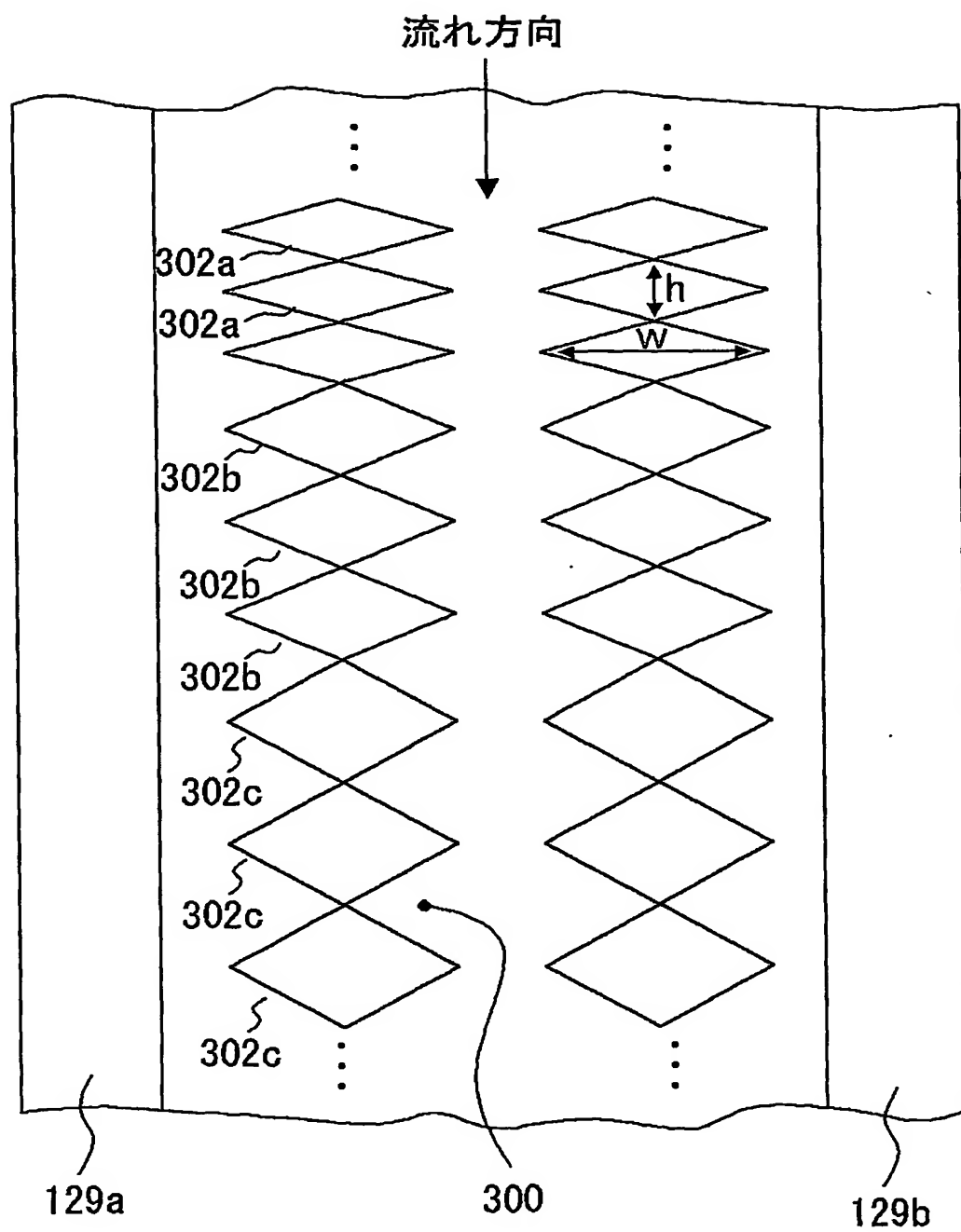
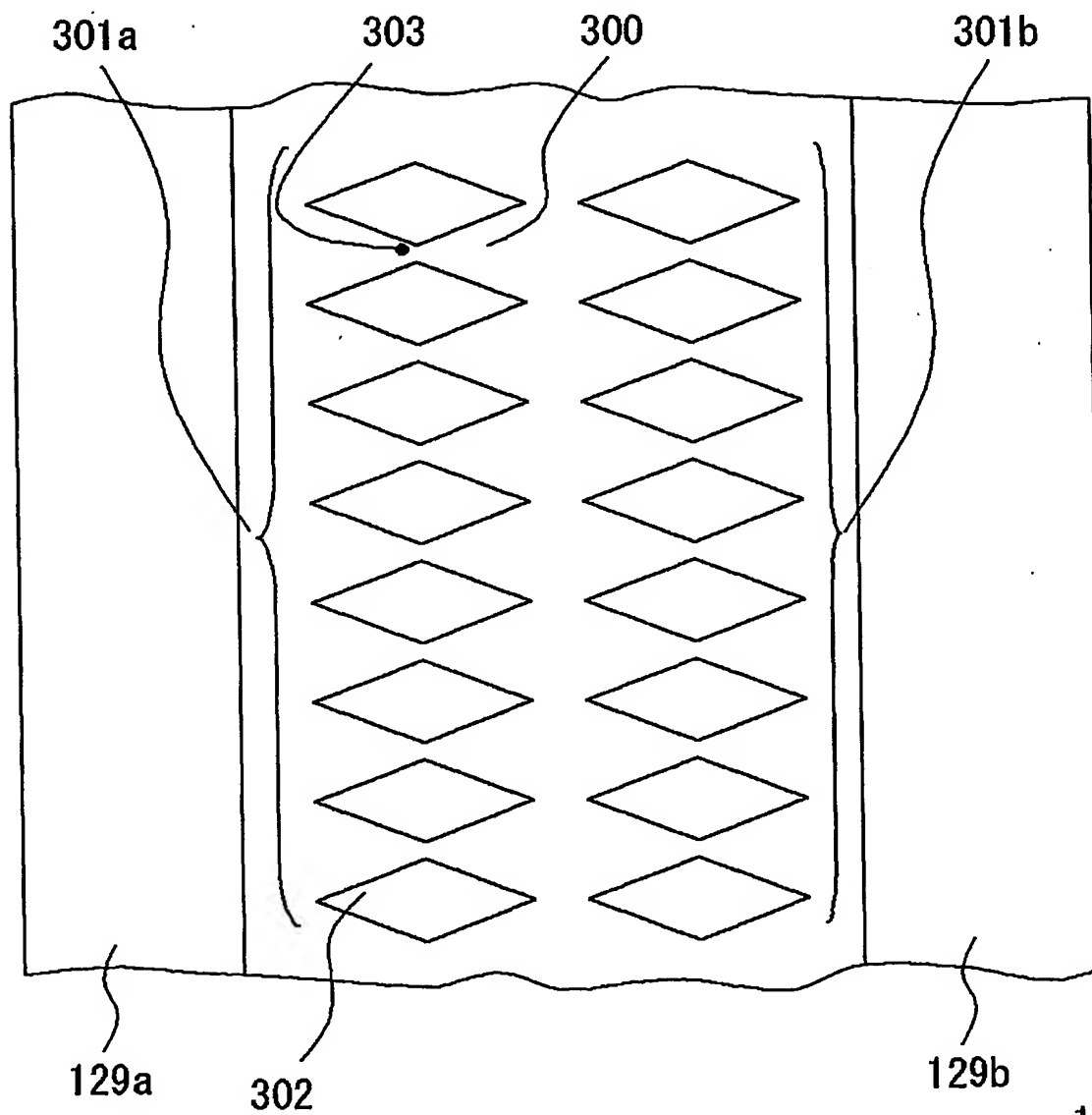


Fig.23



24 / 51

Fig.24

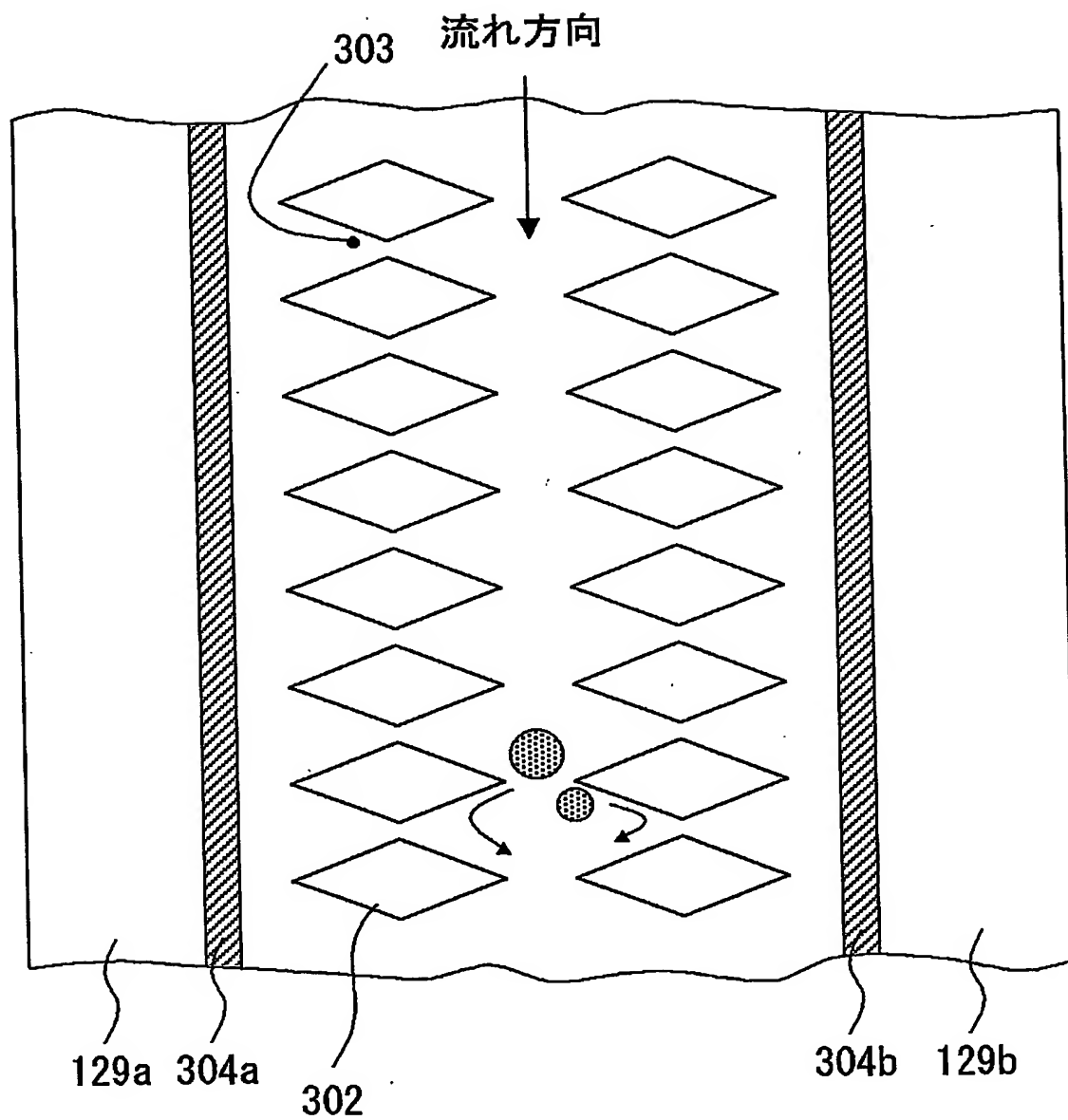


Fig.25

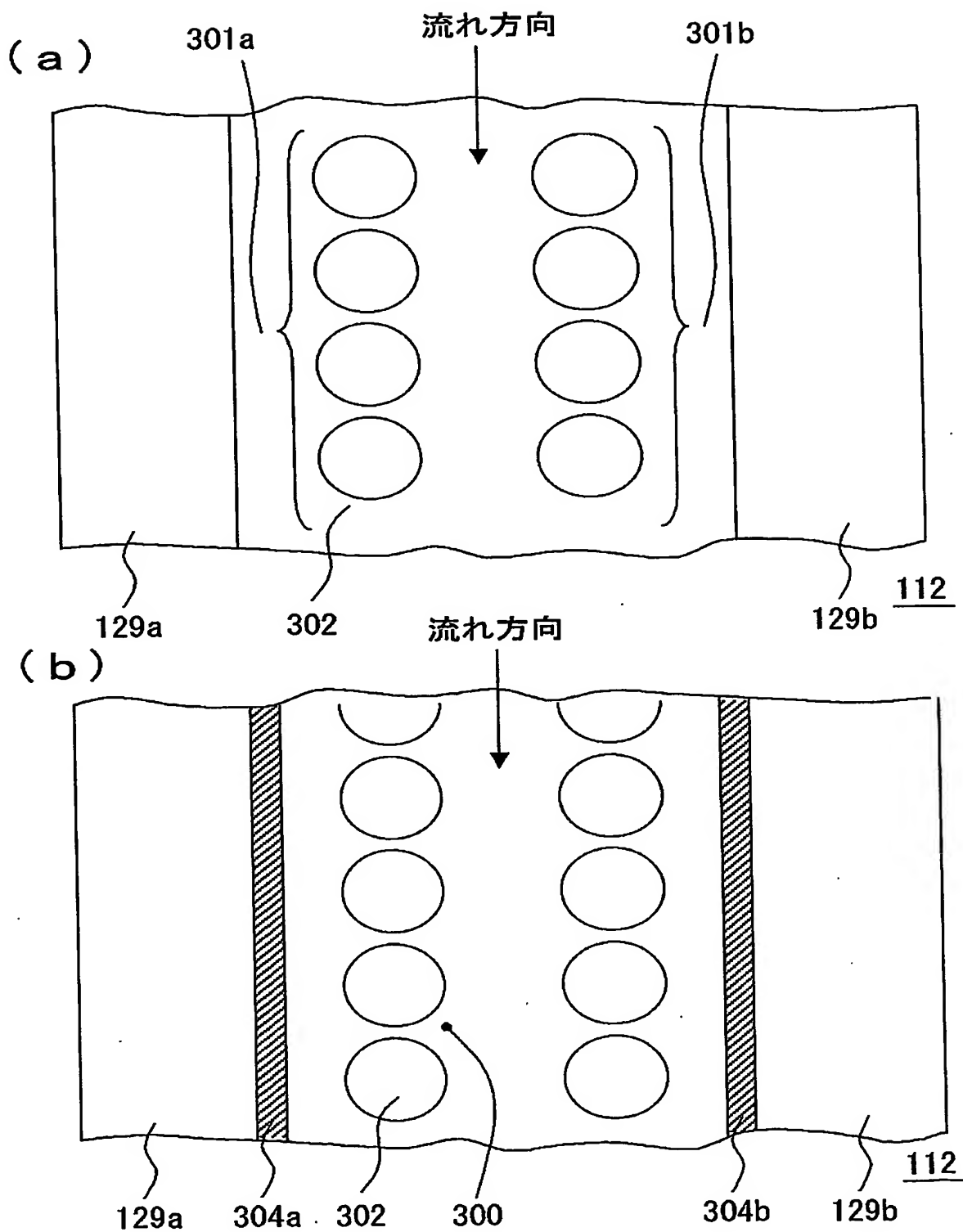


Fig.26

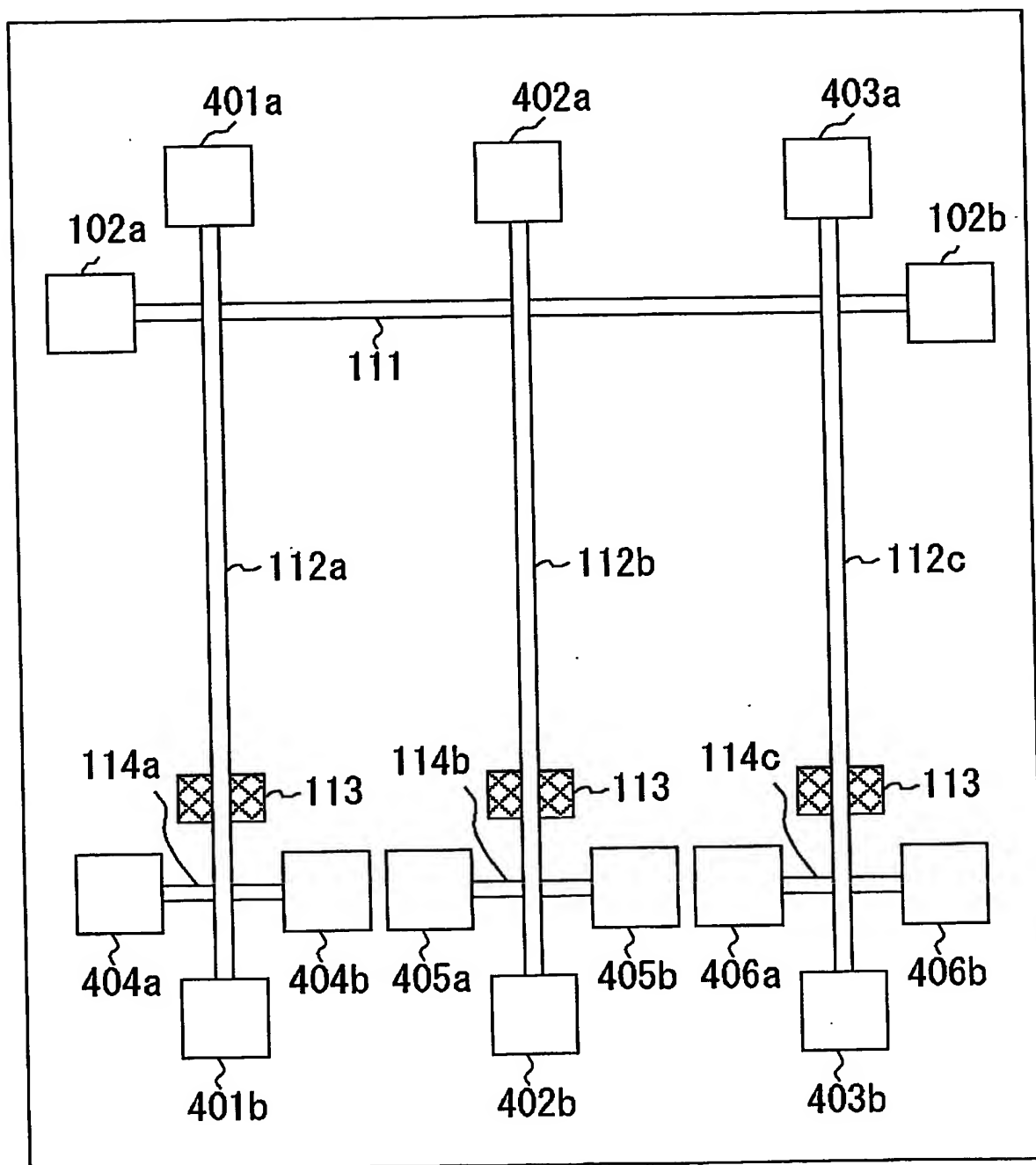


Fig.27

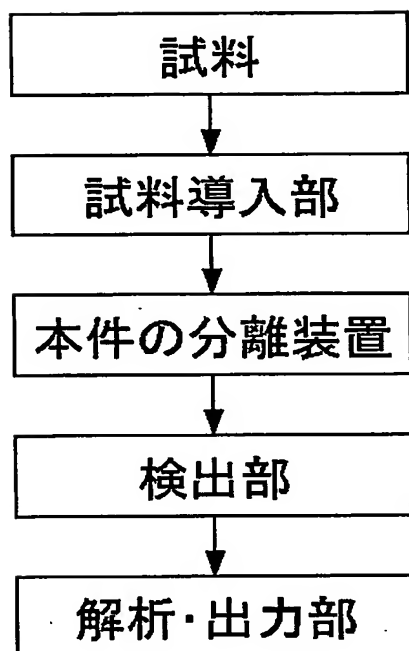


Fig.28

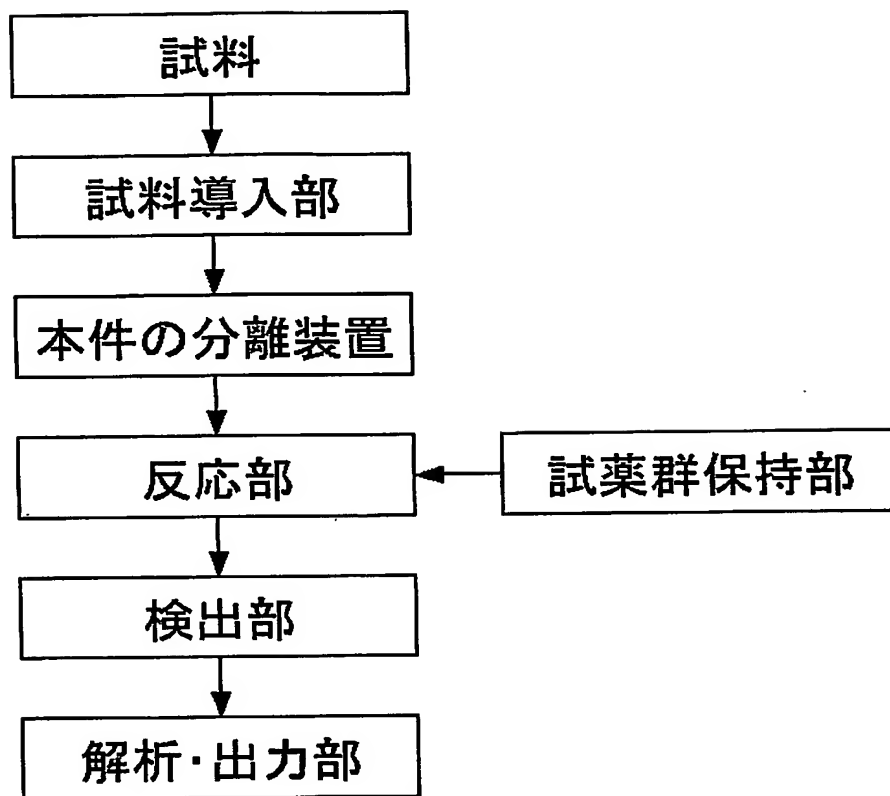


Fig.29

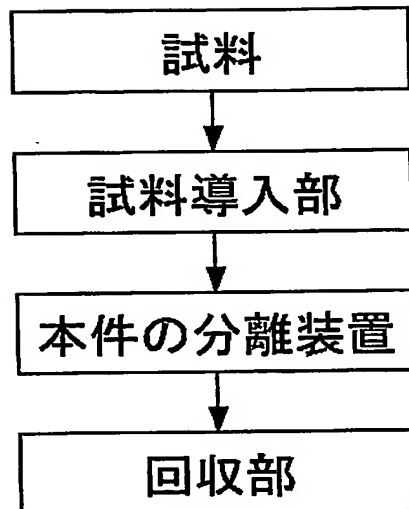
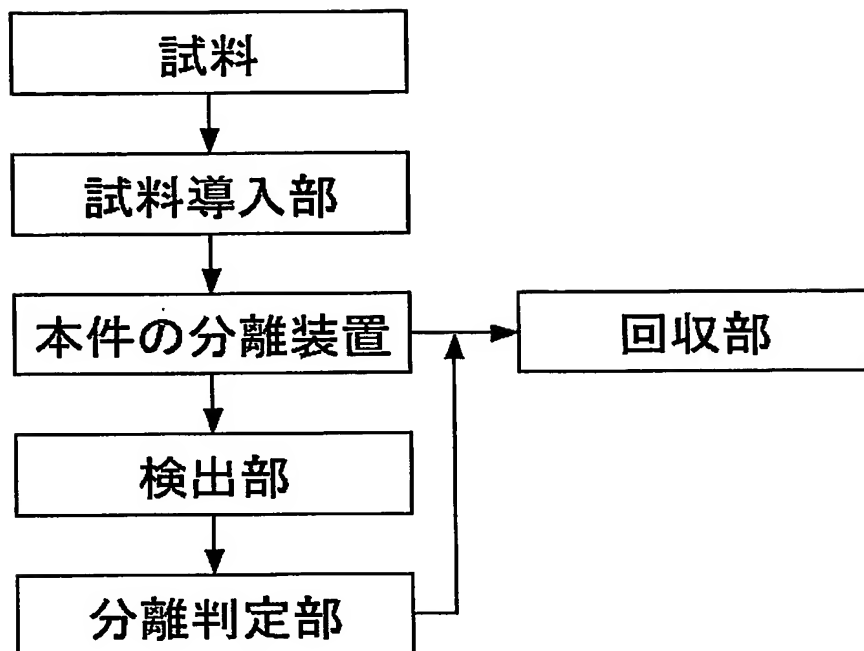
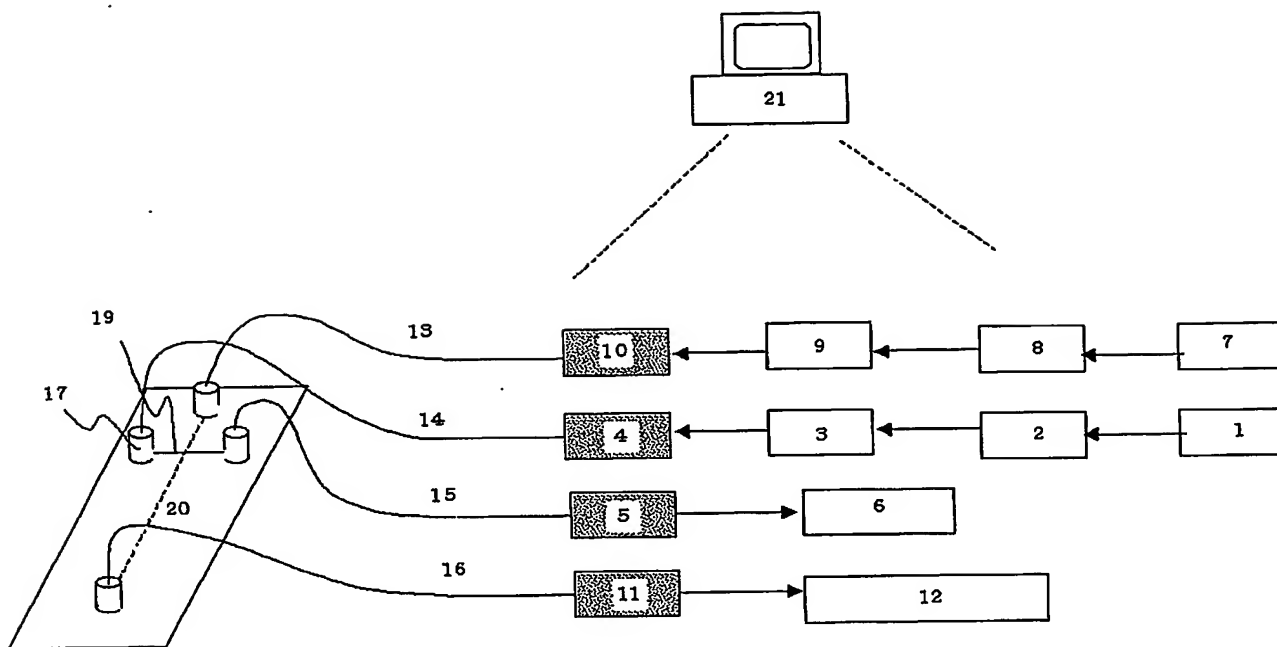


Fig.30



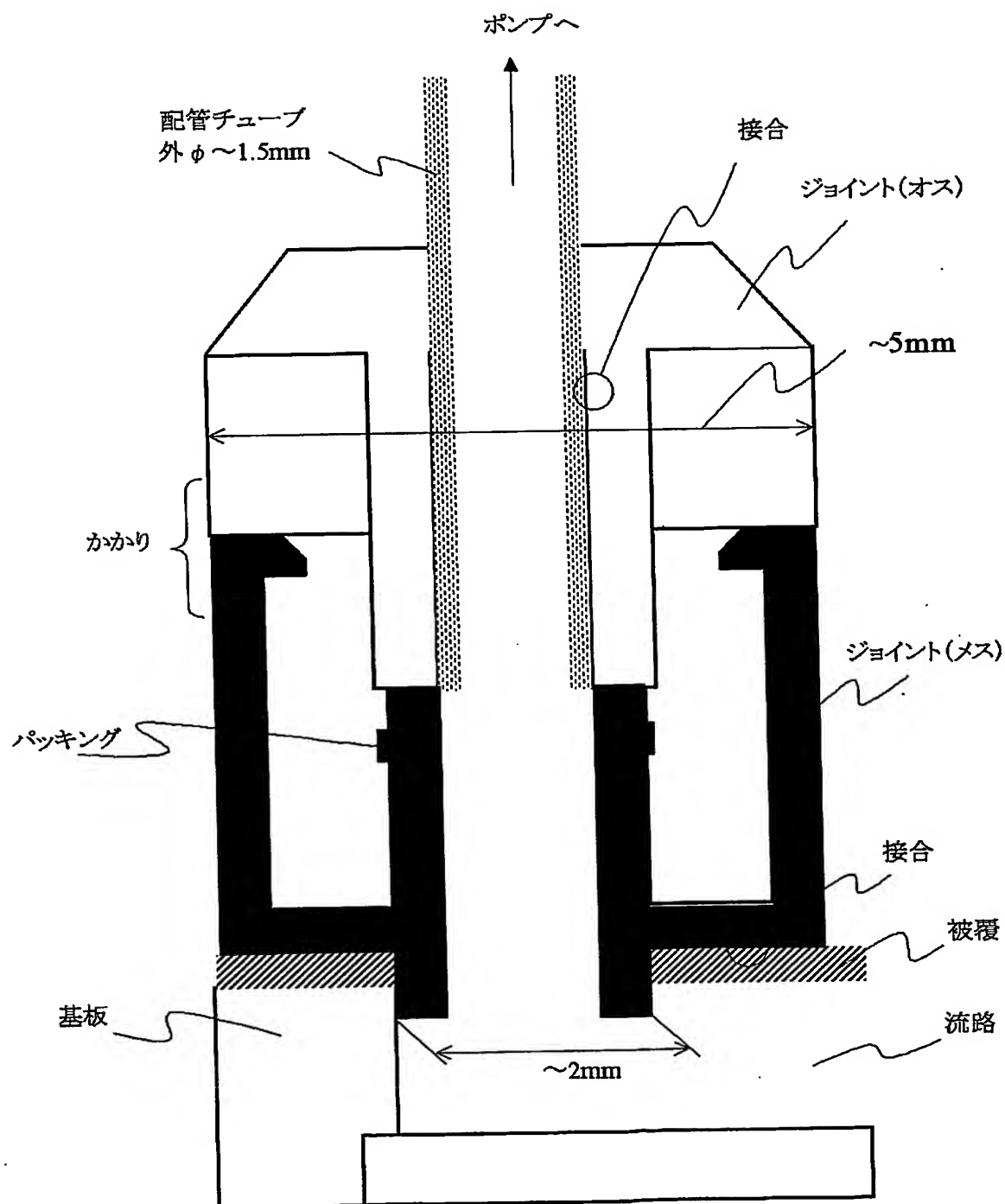
31 / 51

Fig.31



BEST AVAILABLE COPY

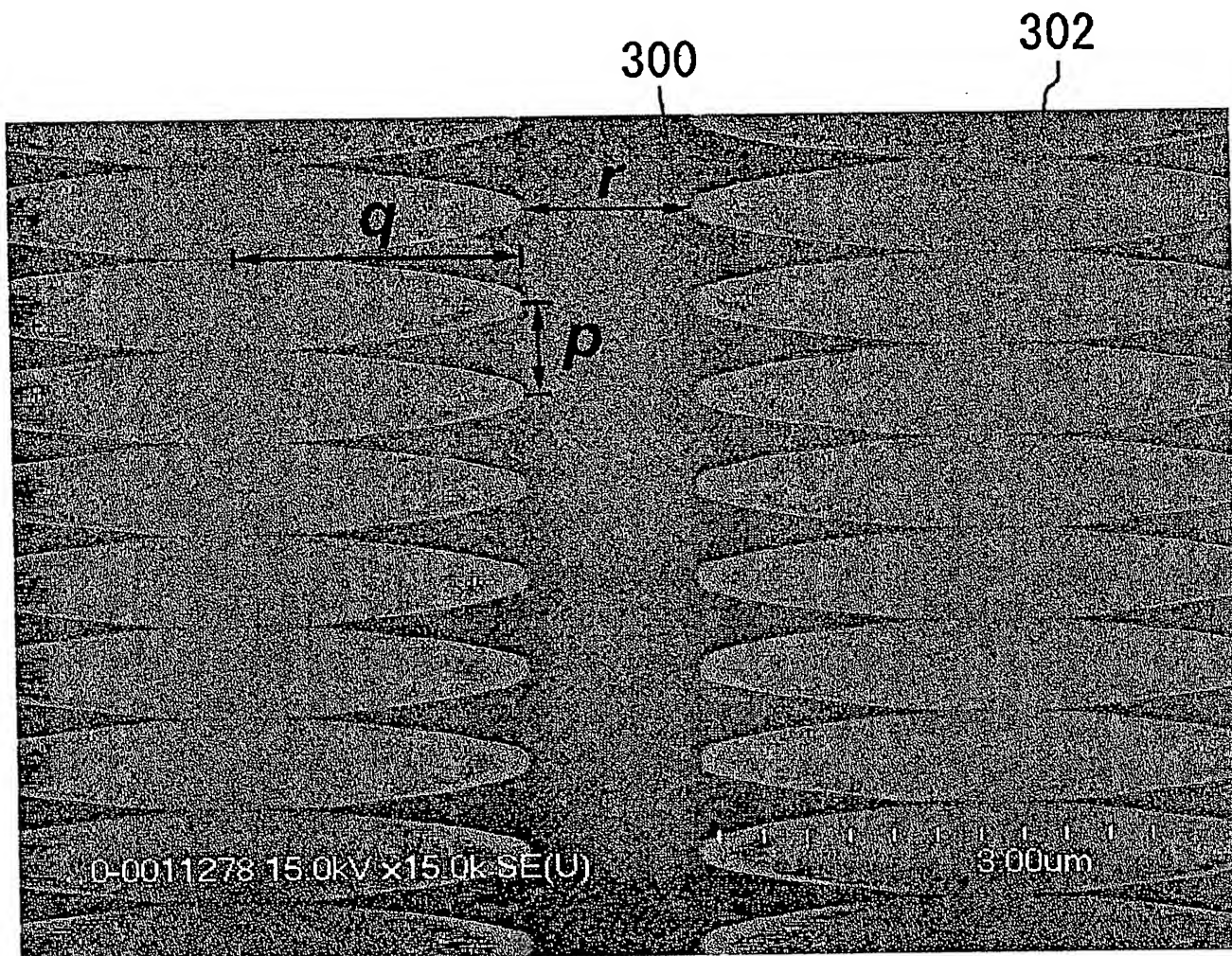
Fig.32



BEST AVAILABLE COPY

33 / 51

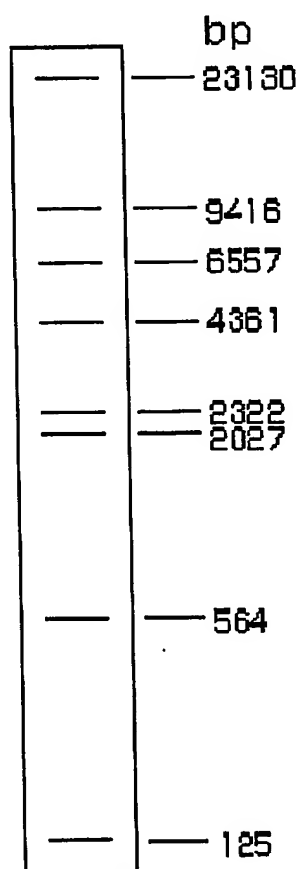
Fig.33

112

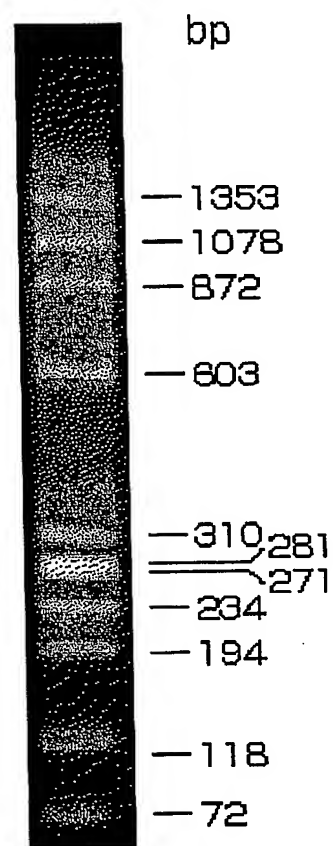
BEST AVAILABLE COPY

Fig.34

(a)

 λ -Hind III digest

(b)

 ϕ X174 Hae III digest

35 / 51

Fig.35

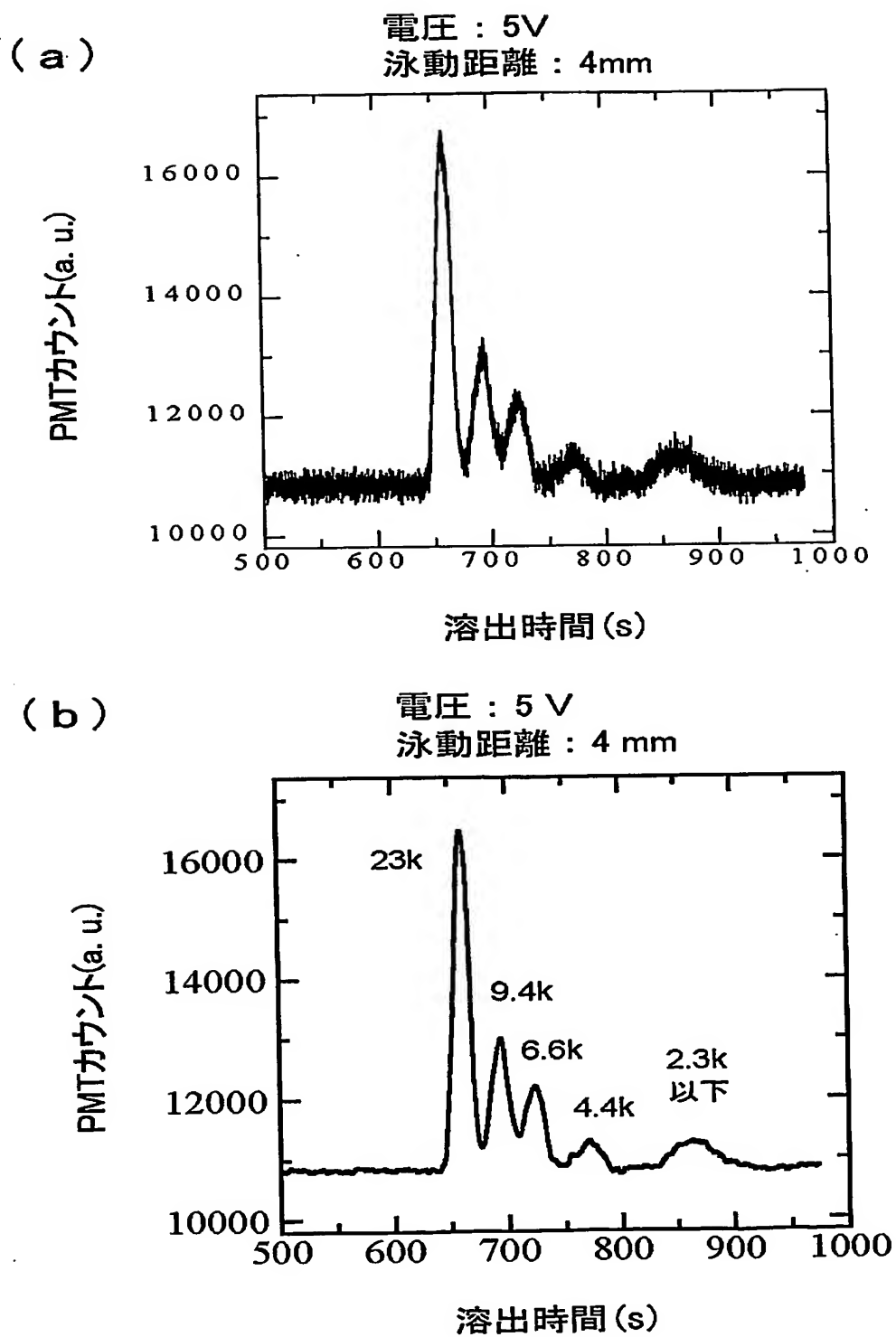
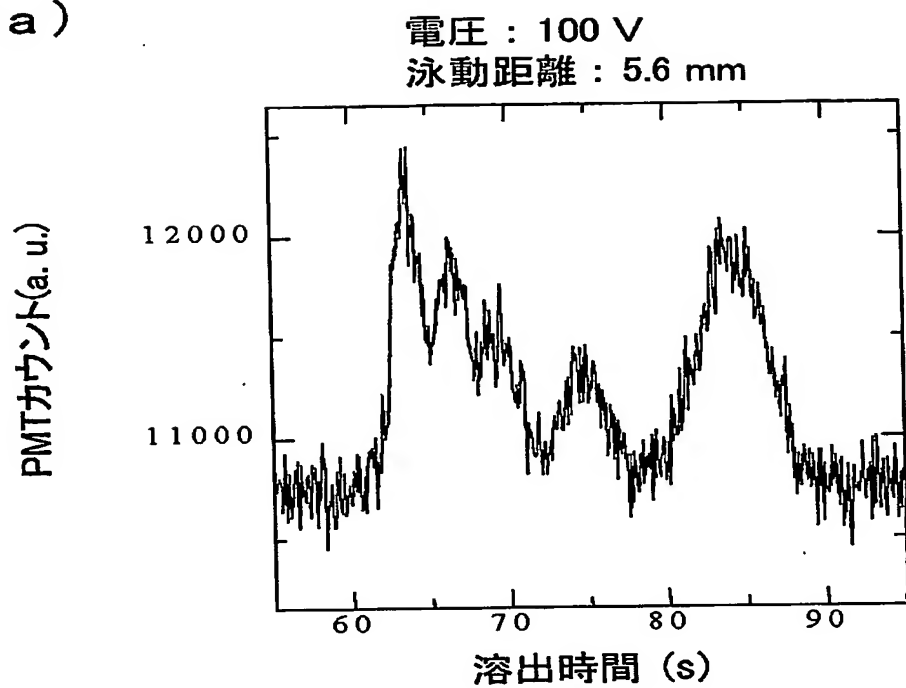


Fig.36

(a)



(b)

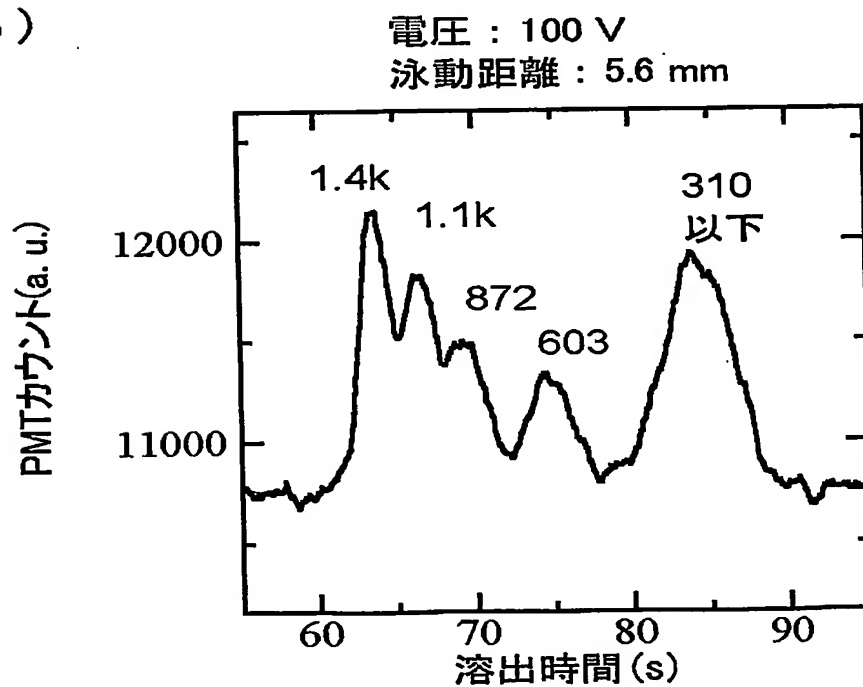


Fig.37

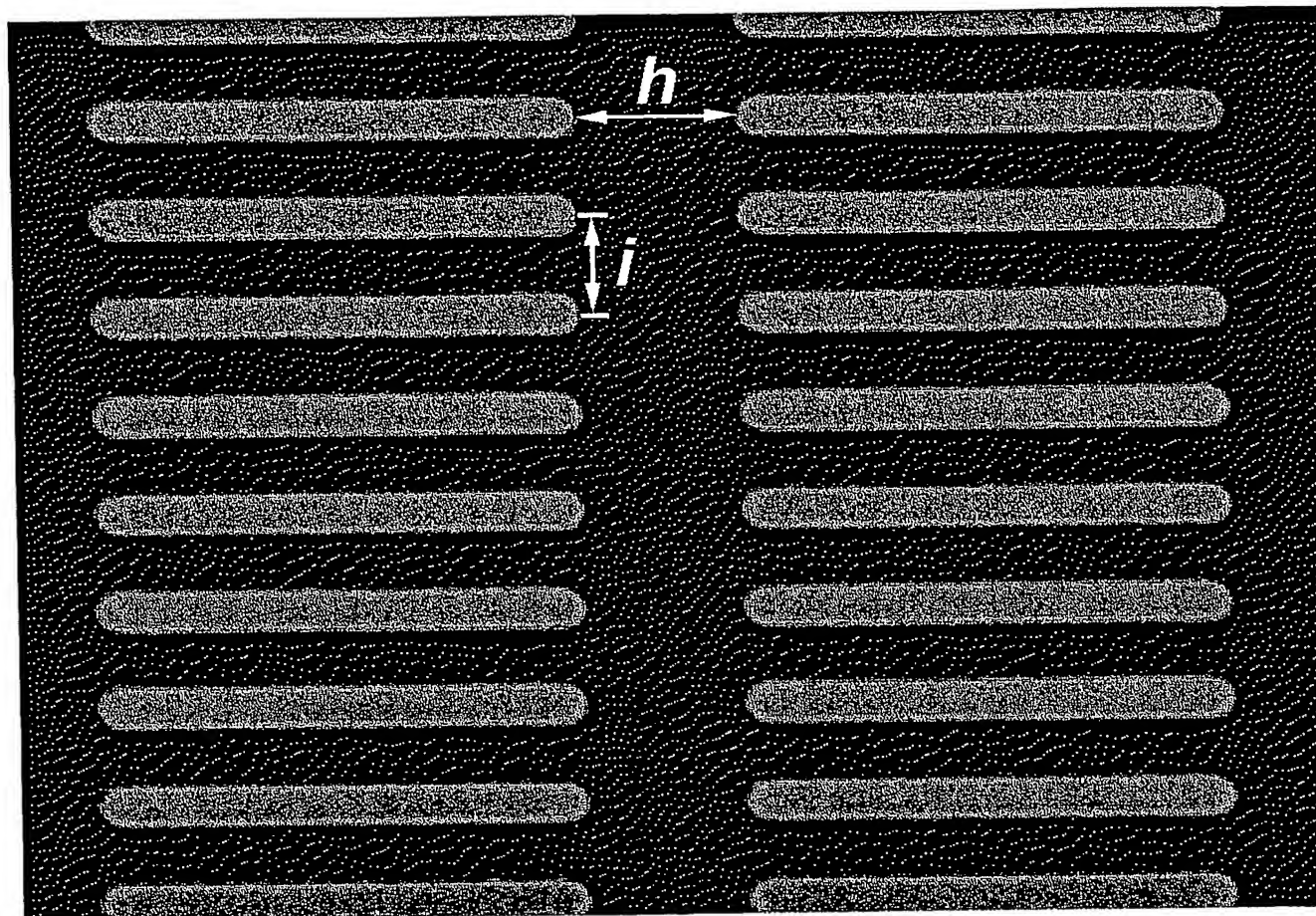


Fig.38

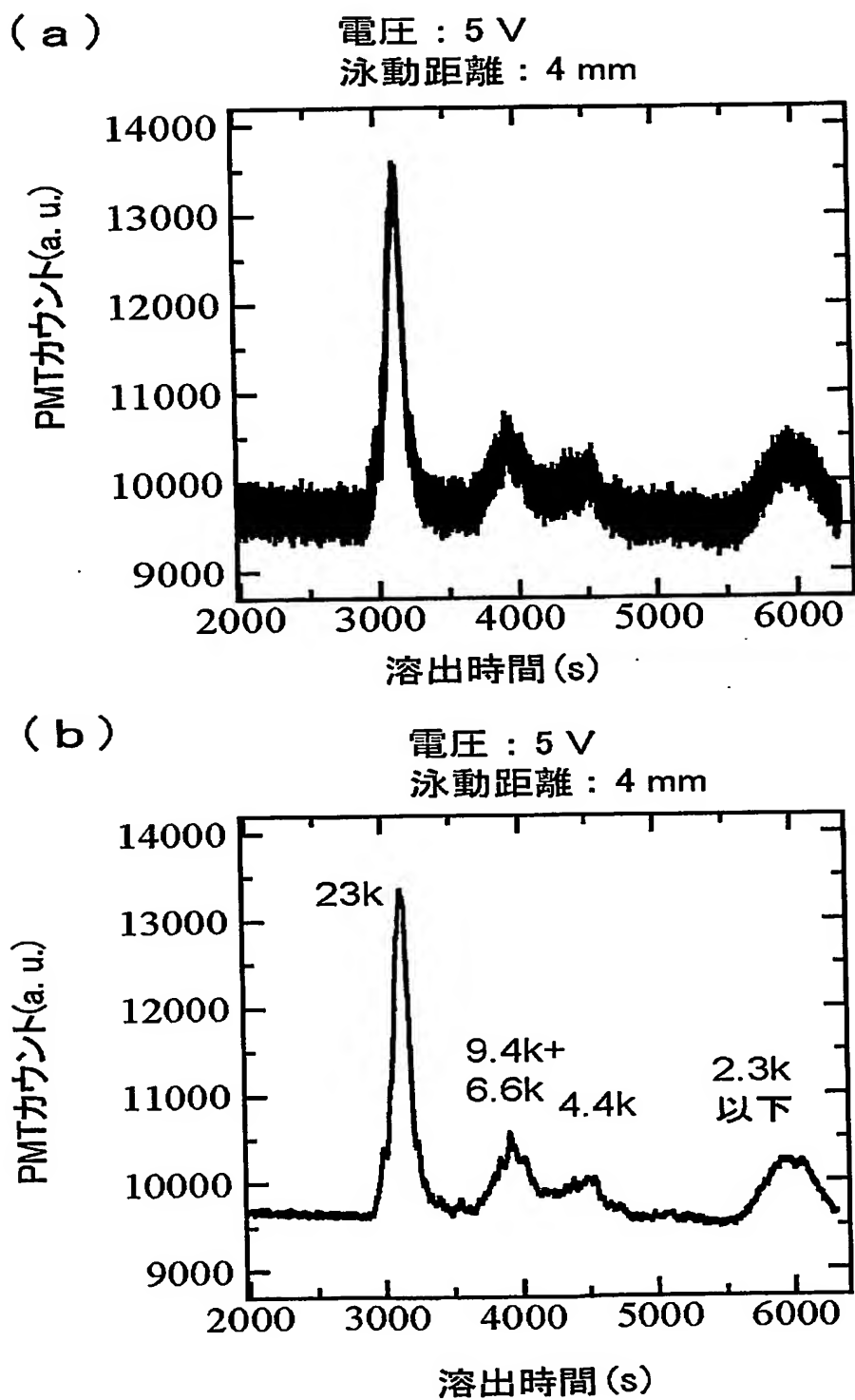


Fig.39

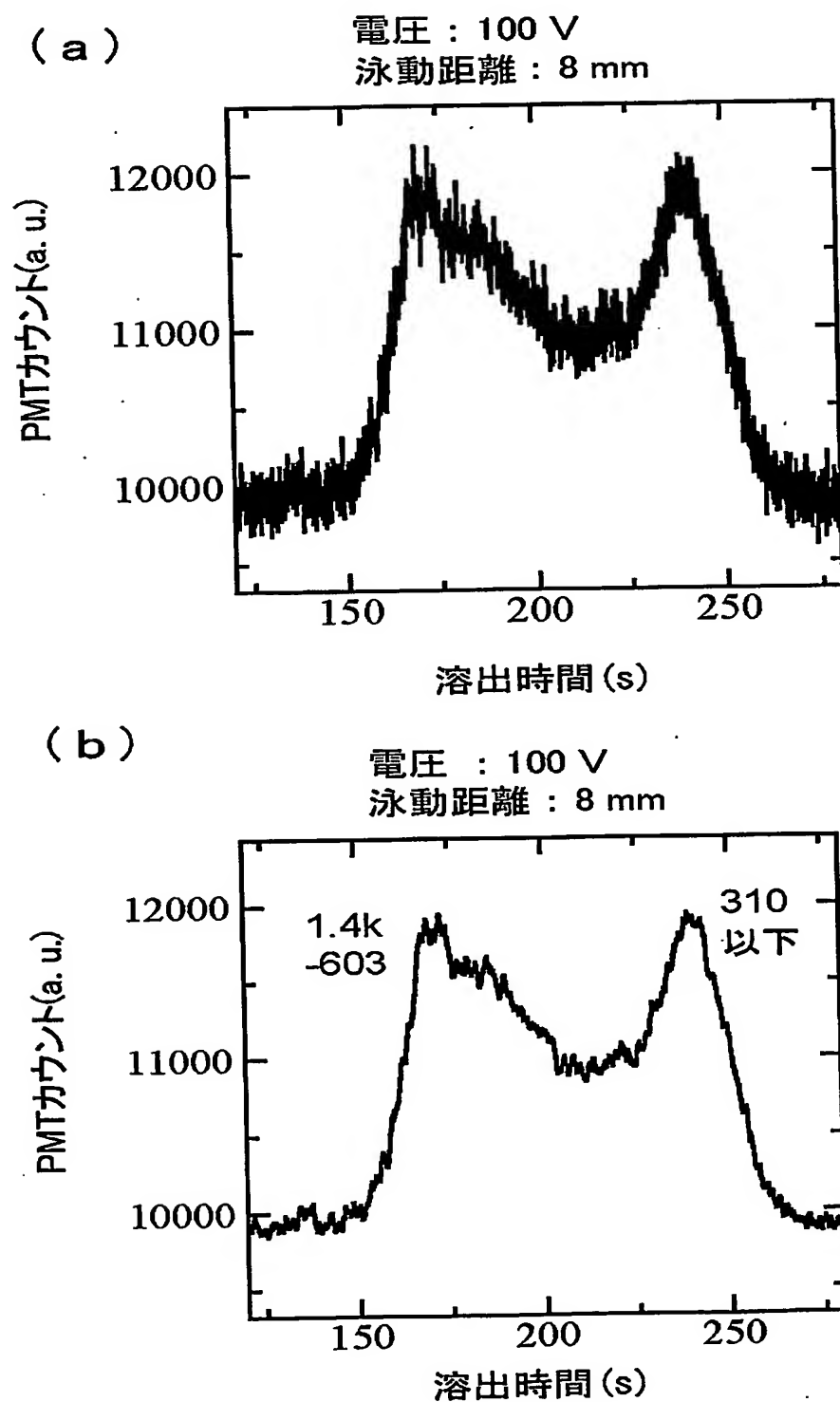
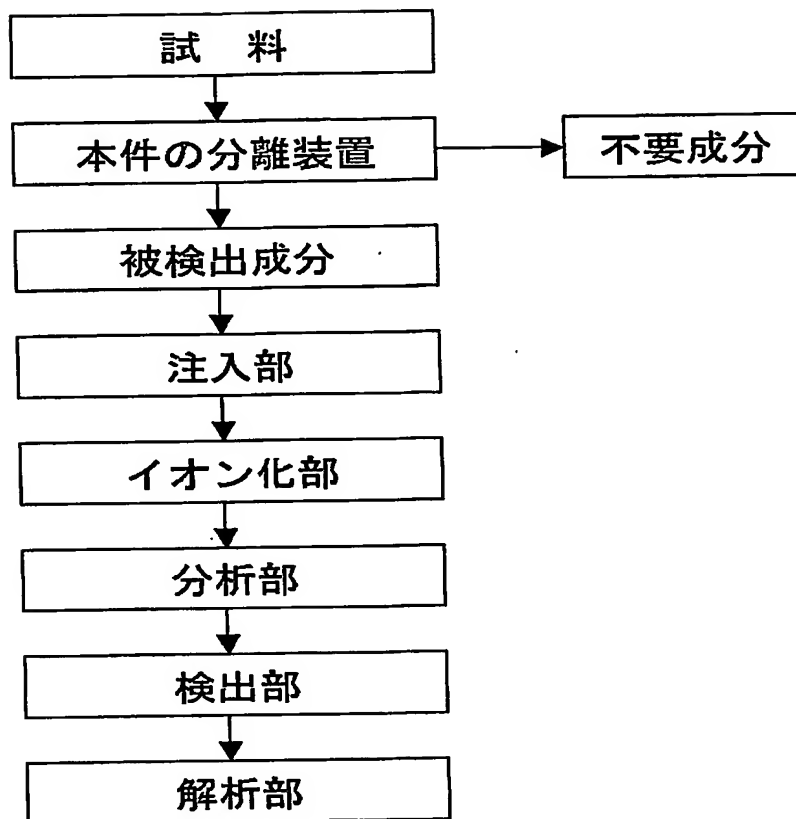
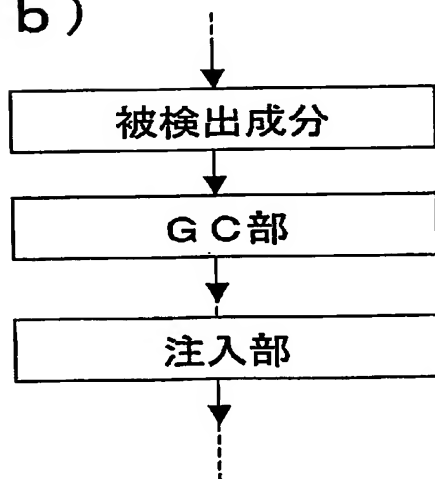


Fig.40

(a)



(b)



(c)

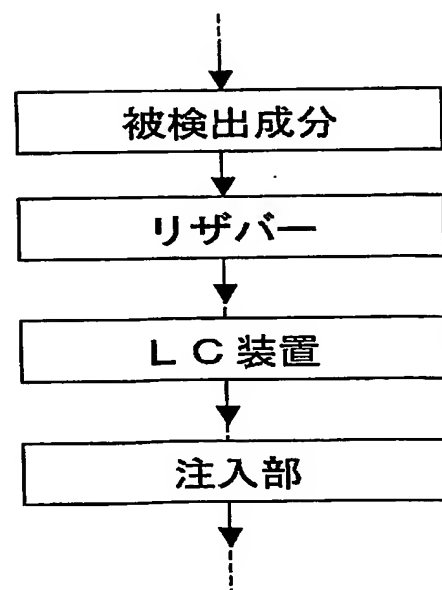
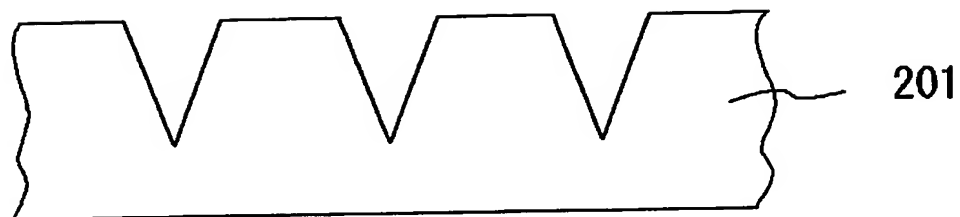


Fig.41

(a)



(b)

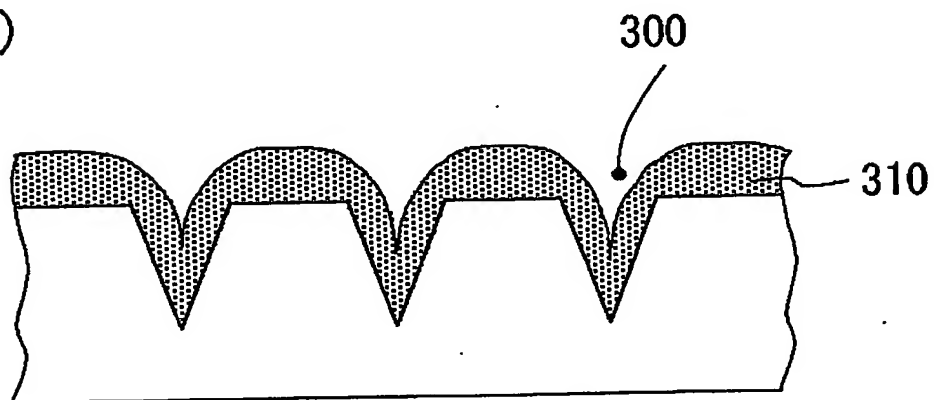
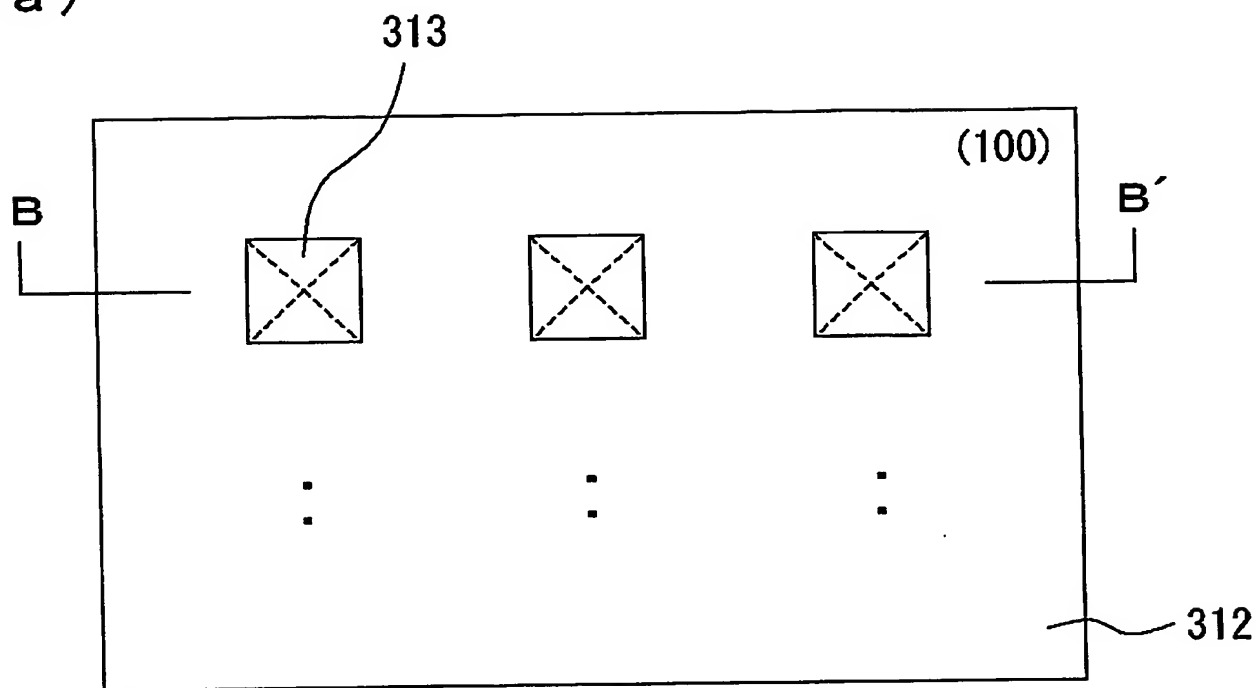
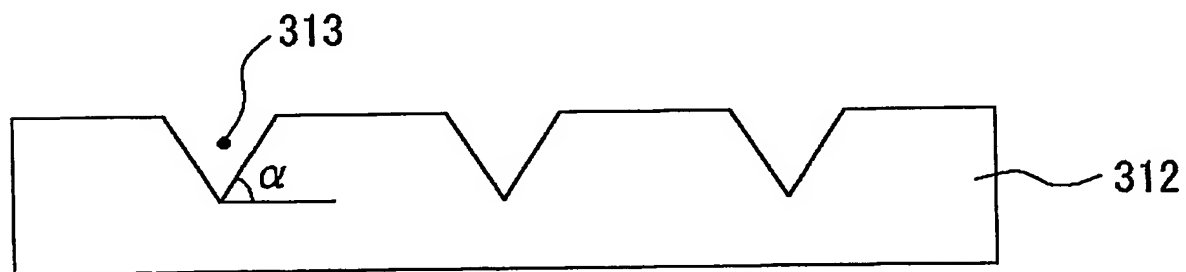


Fig.42

(a)



(b)



43 / 51

Fig.43

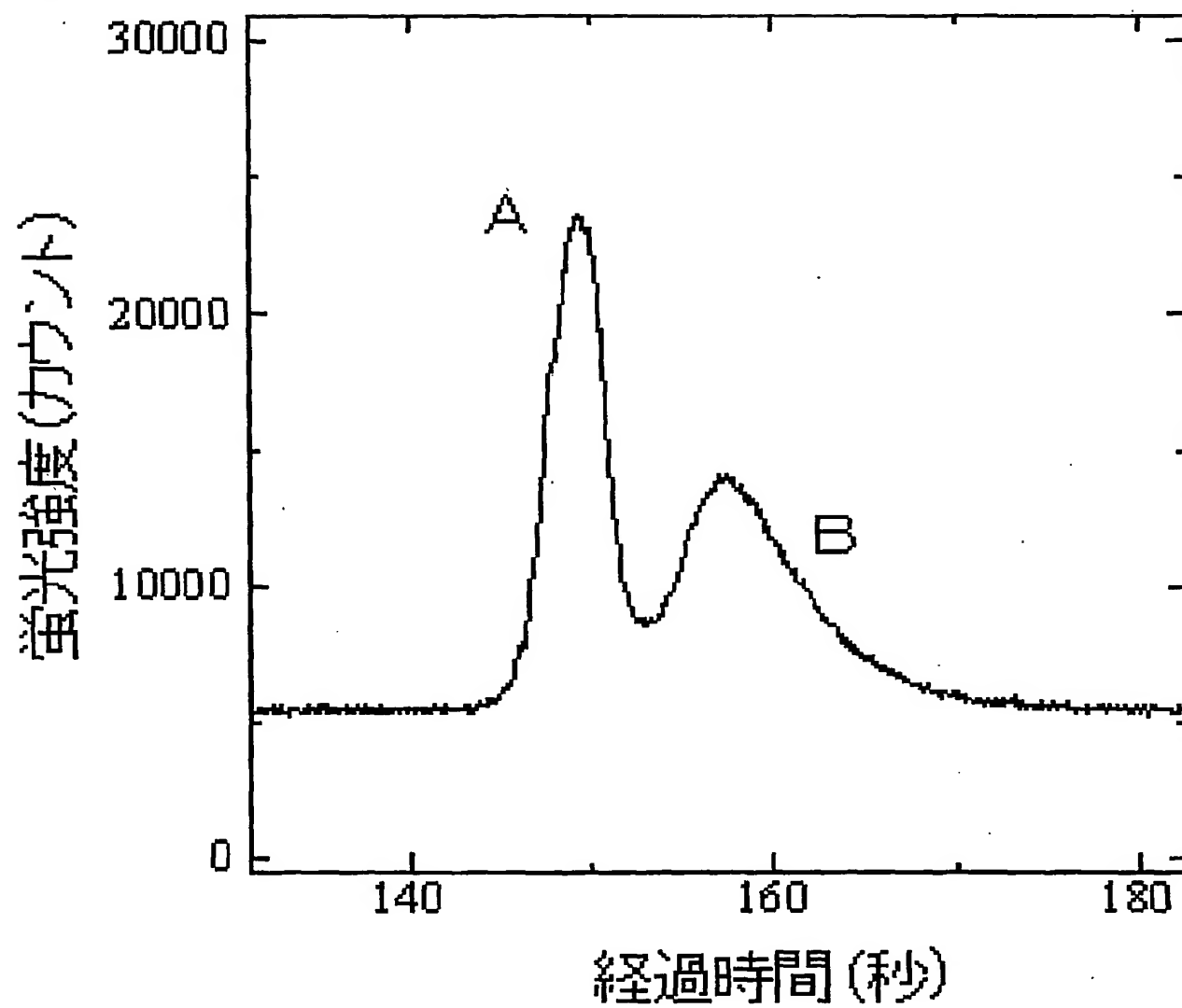


Fig.44

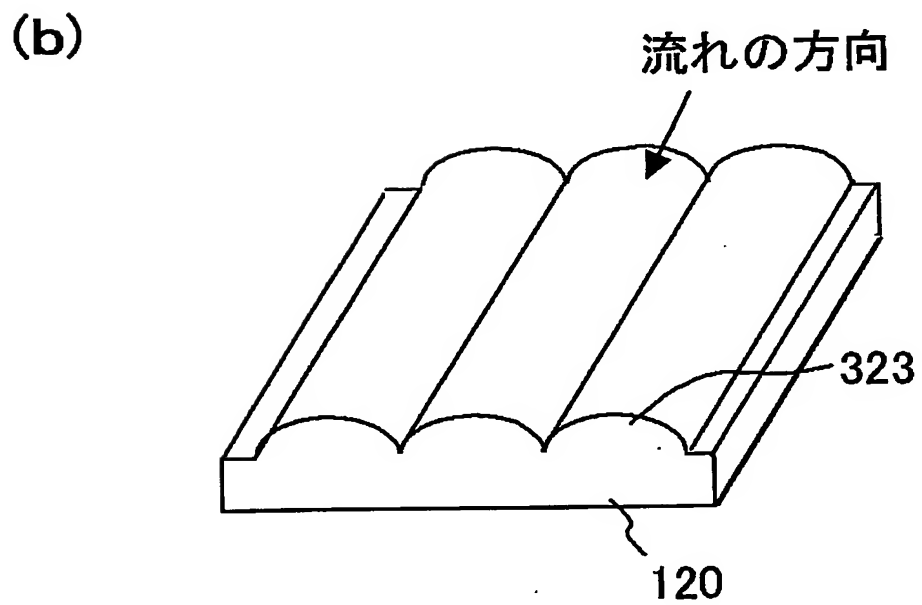
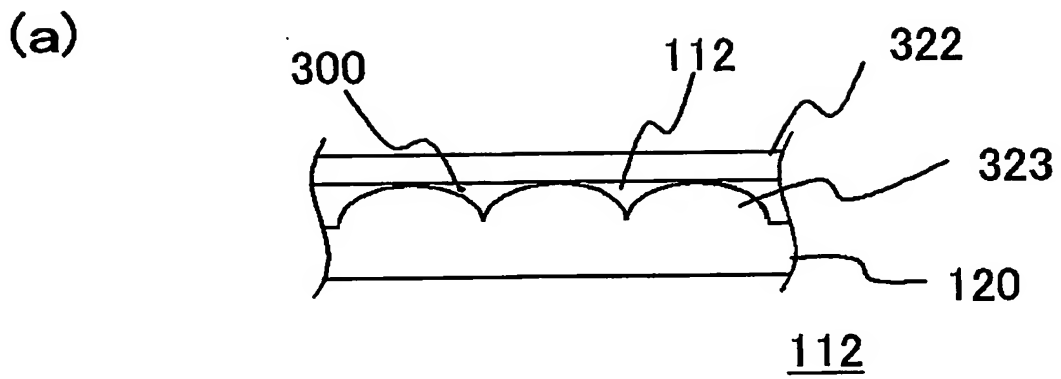


Fig.45

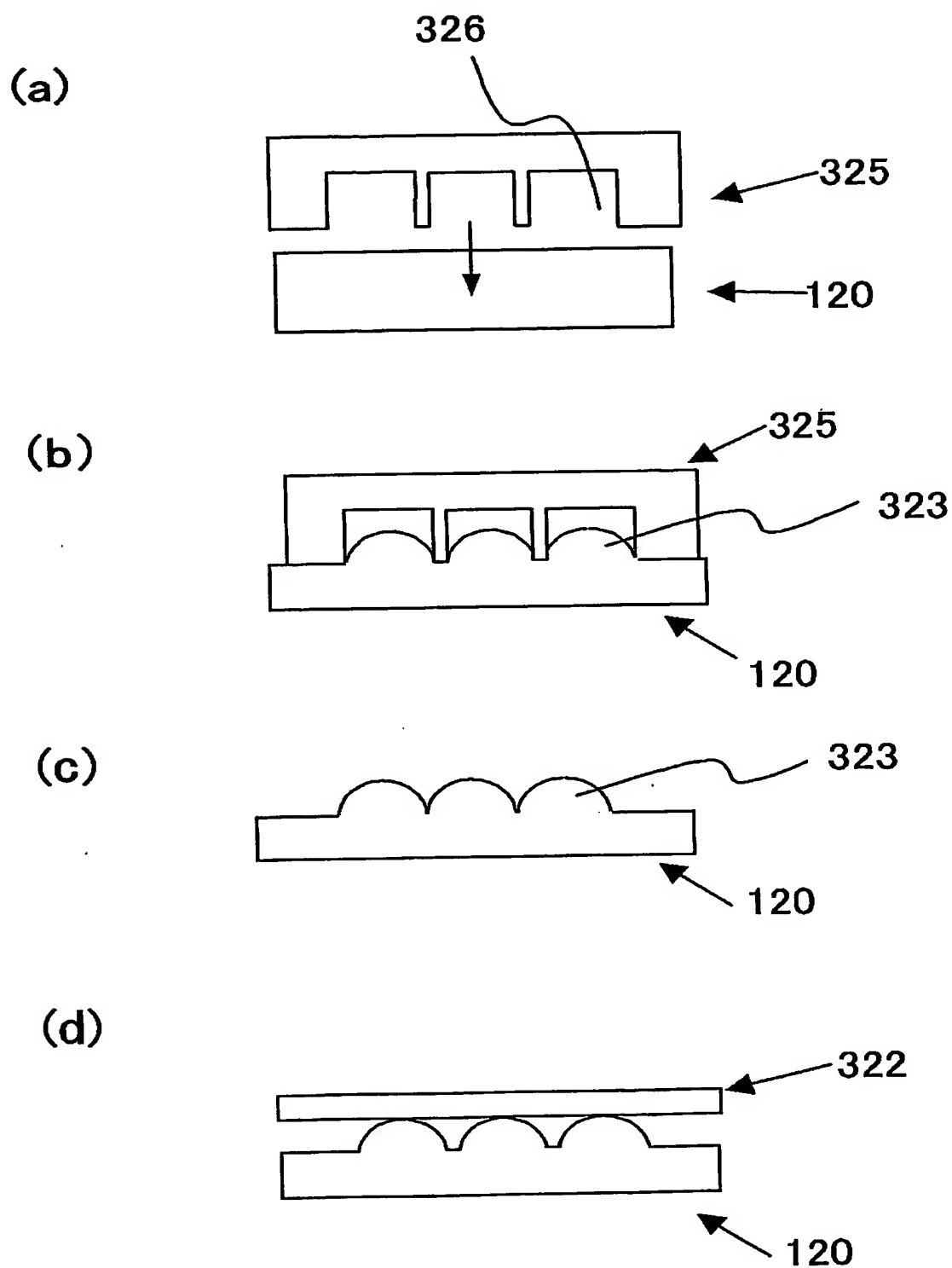


Fig.46

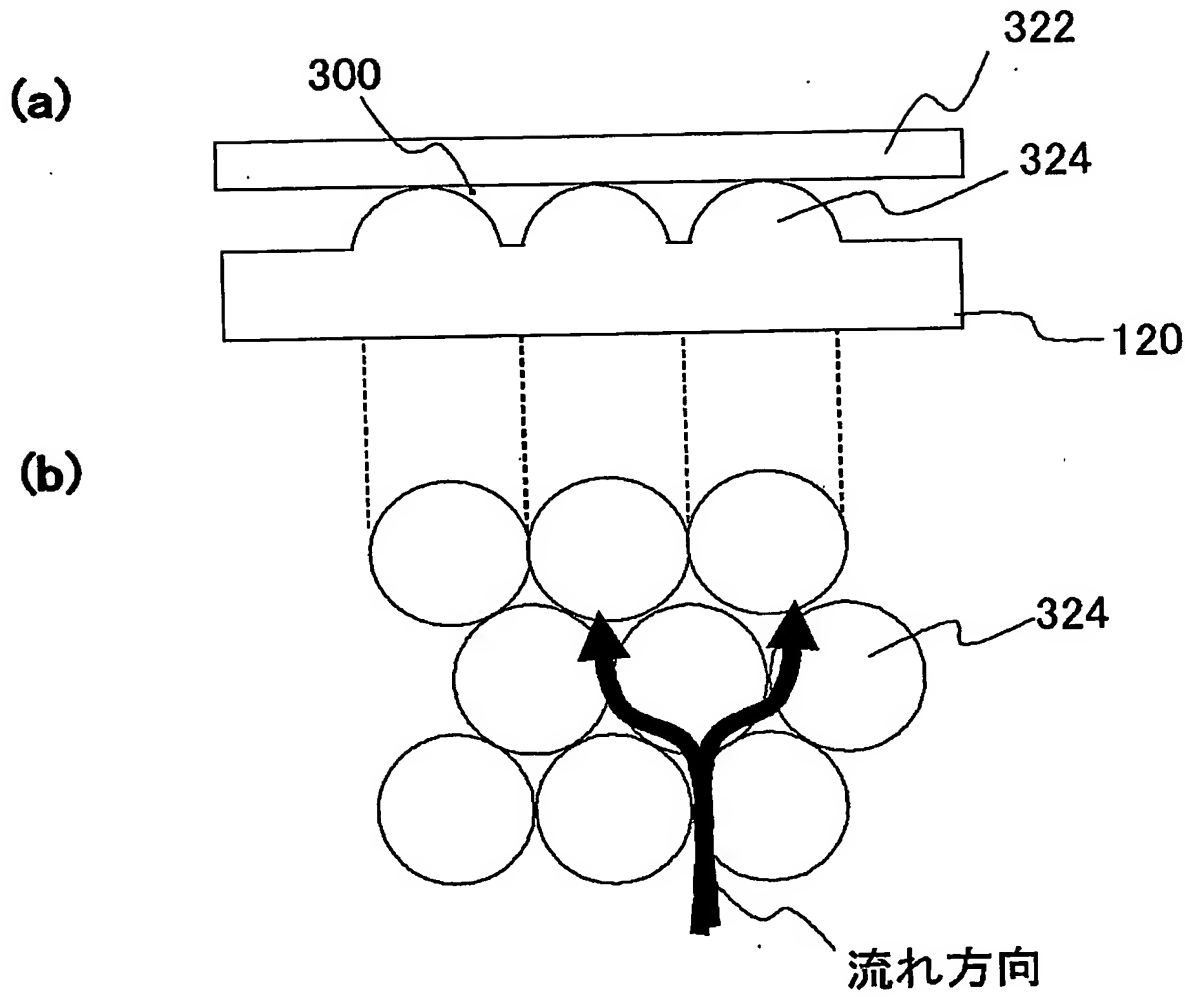


Fig.47

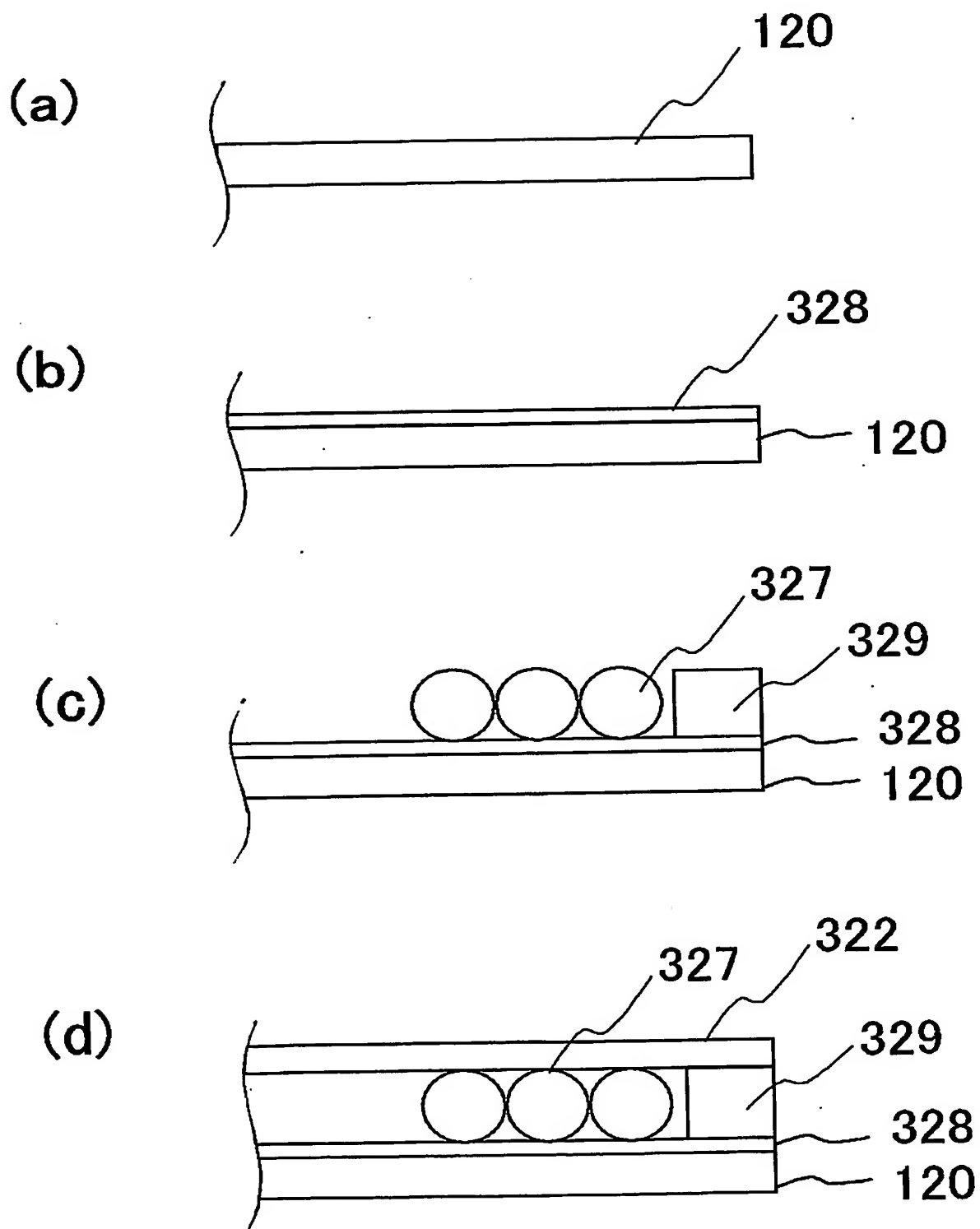


Fig.48

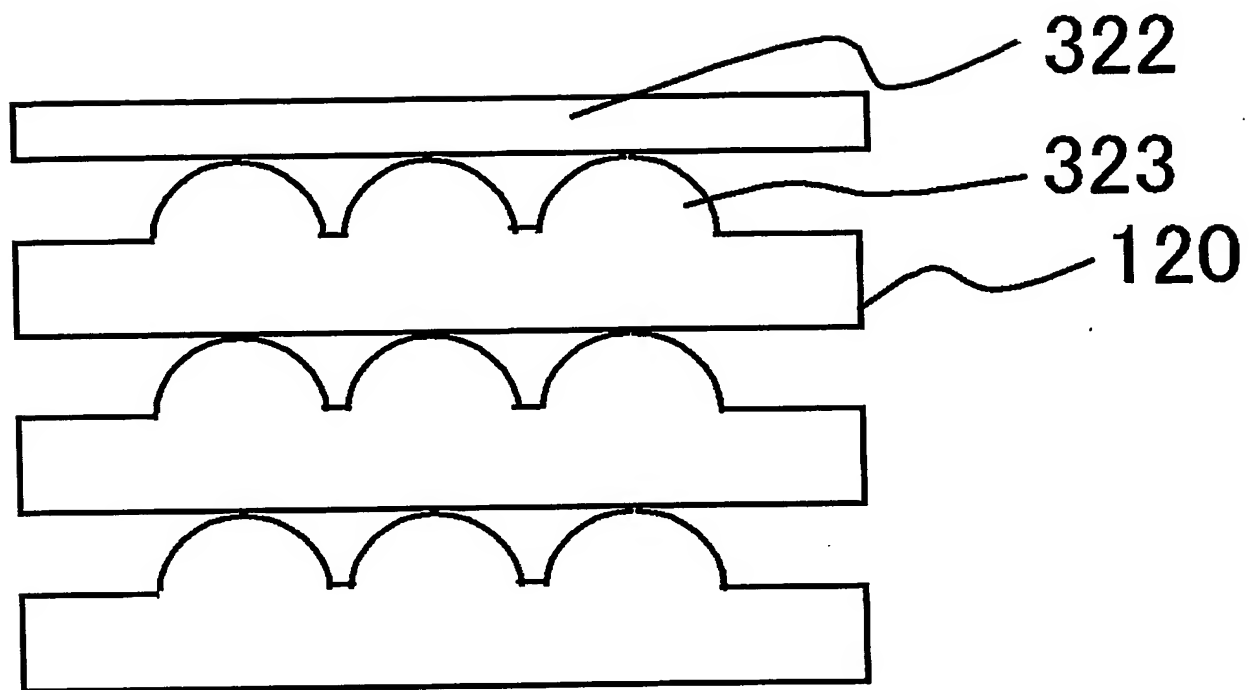


Fig.49

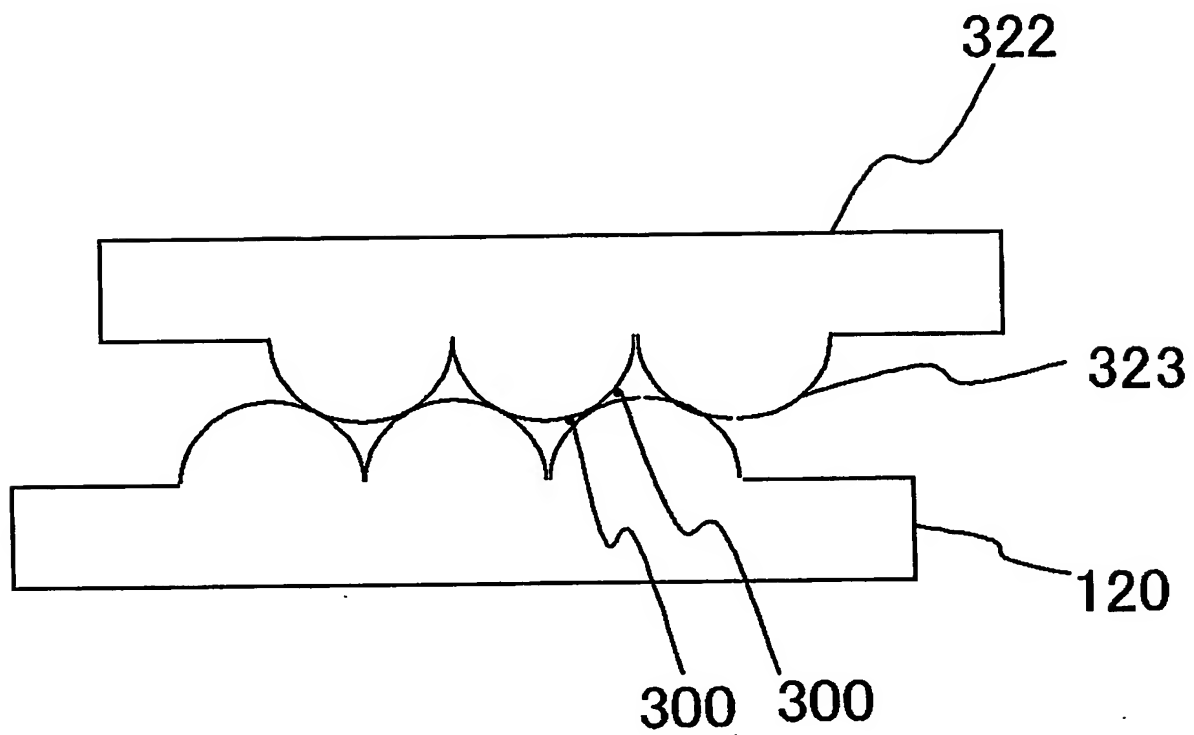


Fig.50

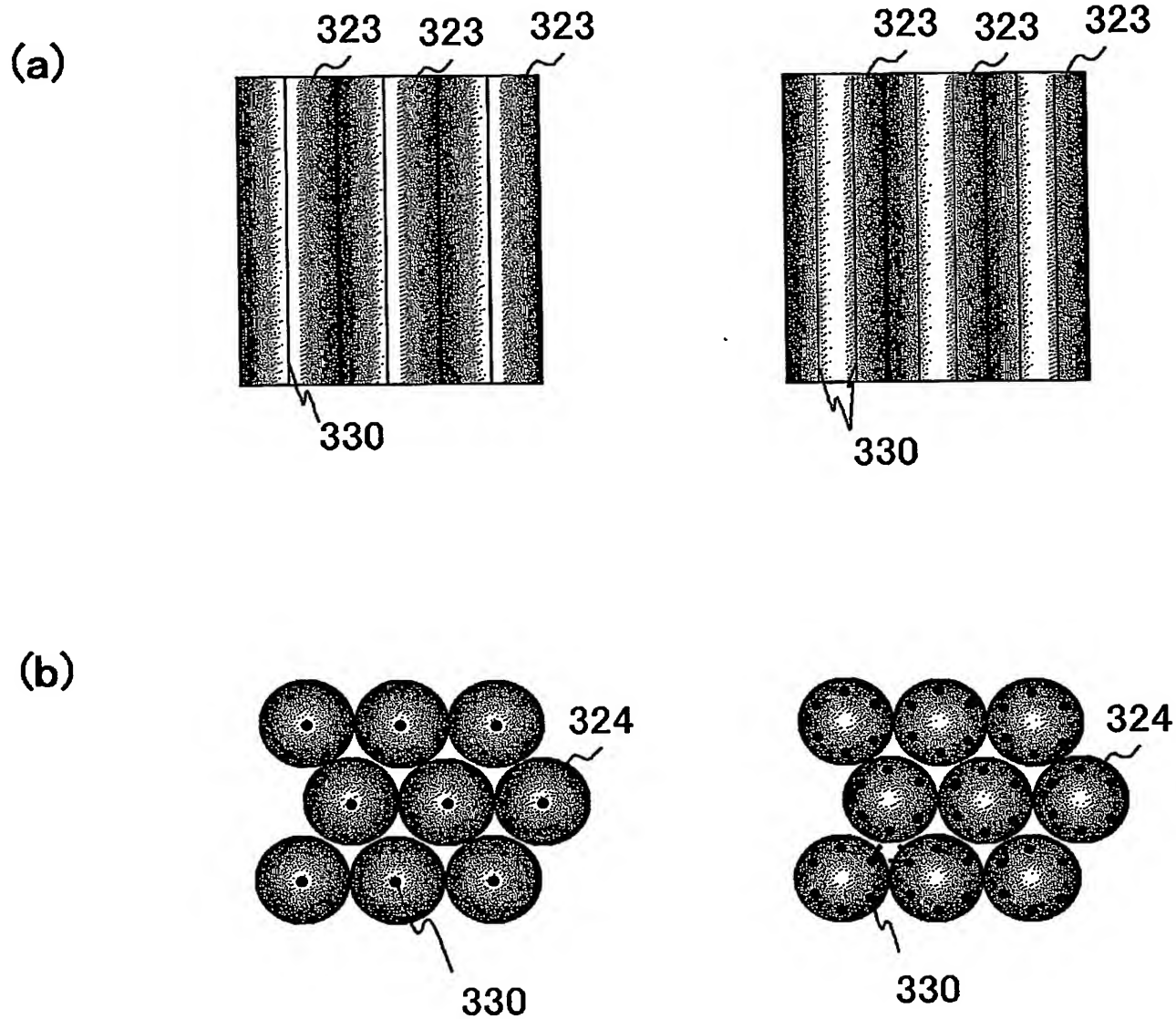
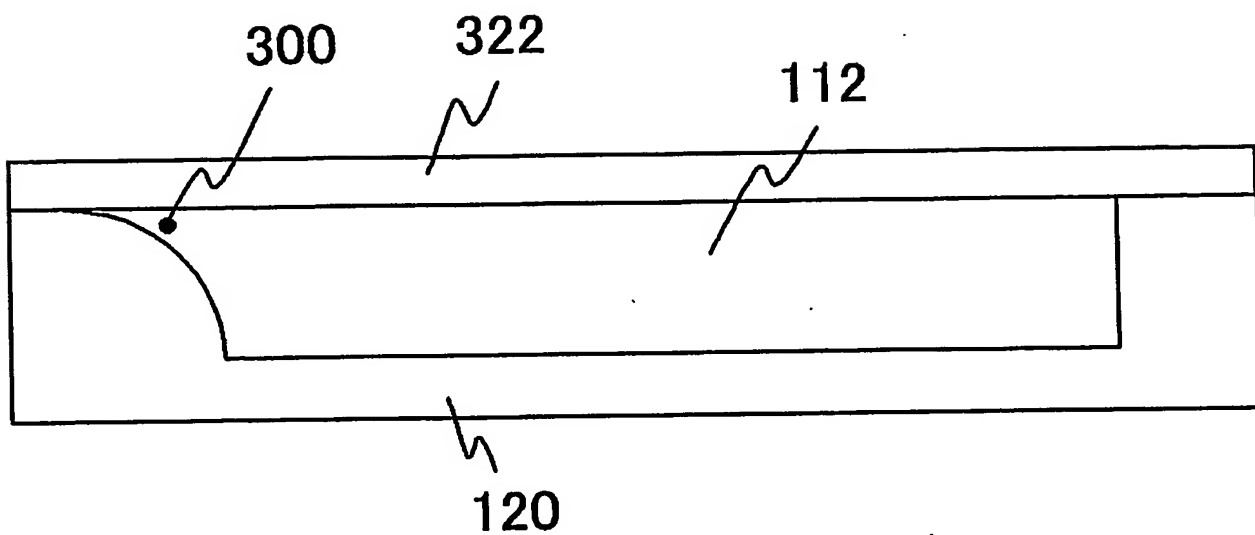


Fig.51



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP03/13852

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl⁷ G01N35/08, 27/26, 30/48, 37/00, B01D57/02, B81C1/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl⁷ G01N35/08-35/10, 27/26-27/49, 30/00-30/96, 37/00,
B01D57/02, B81C1/00

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Jitsuyo Shinan Koho	1922-1996	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-2004
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-2004	Jitsuyo Shinan Toroku Koho	1996-2004

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
JOIS (JICST FILE)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	SANO, BABA, IGUCHI, IIDA, KAWAURA, SAKAMOTO, Dai 63 Kai Extended Abstracts; The Japan Society of Applied Physics, separate Vol.3, 24 September, 2002 (24.09.02), page 1146 (25a-R-8)	1-26
Y	US 6027623 A (Toyo Technologies, Inc.), 22 February, 2000 (22.02.00), Full text; Figs. 1 to 4 (Family: none)	1-26
Y	JP 9-504362 A (British Technology Group USA Inc.), 28 April, 1997 (28.04.97), Page 24, line 13 to page 25, line 5; Fig. 7 & WO 94029707 A & US 5427663 A & EP 711412 A & US 5837115 A & CA 2164720 A	1-26

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"E" earlier document but published on or after the international filing date	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"&" document member of the same patent family
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	

Date of the actual completion of the international search
05 February, 2004 (05.02.04)

Date of mailing of the international search report
24 February, 2004 (24.02.04)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP03/13852

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	WO 2002/023180 A (Hitachi, Ltd.), 21 March, 2002 (21.03.02), Full text; Figs. 1 to 14 (Family: none)	17, 21-26
Y	JP 2002-310992 A (Hitachi Electronics Engineering Co., Ltd.), 23 October, 2002 (23.10.02), Par. Nos. [0014] to [0016]; Figs. 1 to 4 (Family: none)	18
Y	JP 2002-55098 A (Nippon Columbia Co., Ltd.), 20 February, 2002 (20.02.02), Par. Nos. [0026] to [0035]; Fig. 3 (Family: none)	21-26
A	JP 8-327594 A (Shimadzu Corp.), 13 December, 1996 (13.12.96), Full text; Figs. 1 to 7 (Family: none)	1-26
A	JP 2001-183363 A (Roche Diagnostics Corp.), 06 July, 2001 (06.07.01), Full text; Figs. 1 to 6 & EP 1096254 A & US 6319719 B & CA 2324131 A	1-26
A	JP 2-112755 A (Fuji Photo Film Co., Ltd.), 25 April, 1990 (25.04.90), Full text; Figs. 1 to 4 (Family: none)	17
A	JP 7-43344 A (The Institute of Physical and Chemical Research), 14 February, 1995 (14.02.95), Full text; Figs. 1 to 8 (Family: none)	17
A	JP 2001-324471 A (Japan Science and Technology Corp.), 22 November, 2001 (22.11.01), Par. Nos. [0030] to [0036]; Fig. 1 (Family: none)	21-26
A	Marko T. Blom, Han J.G.E. Gradeniers, Albert van den Berg Analytical Chemistry, 15 July, 2002 (15.07.02), Vol.74, No.14, pages 3470 to 3475	1-26
A	James P. Novak, Charles Nickerson, Stefan Franzen, Daniel L. Feldheim Analytical Chemistry, 01 December, 2001 (01.12.01), Vol.73, No.23, pages 5758 to 5761	1-26

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP03/13852

Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

The technical feature of the invention of claims 1-17, 19-26 is providing a separation region with a means such as collecting portions or wide portions for holding a specific component in a sample. The invention of claim 18, however, does not involve this technical feature.

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☒ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl⁷ G01N35/08, 27/26, 30/48, 37/00, B01D57/02, B81C1/00

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl⁷ G01N35/08-35/10, 27/26-27/49, 30/00-30/96, 37/00, B01D57/02, B81C1/00

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報	1922-1996年
日本国公開実用新案公報	1971-2004年
日本国登録実用新案公報	1994-2004年
日本国実用新案登録公報	1996-2004年

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)
JOIS (JICSTファイル)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y	佐野、馬場、井口、飯田、川浦、阪本、第63回応用物理学会学術講演会講演予稿集 第3分冊 2002年9月24日 p. 1146 (25a-R-8)	1-26
Y	US 6027623 A (Toyo Technologies, Inc.) 2000.02.22 全文 第1-4図 (ファミリーなし)	1-26
Y	JP 9-504362 A (フリティッシュ・テクノロジー・グループ・ユースエイ・インコーポレーテッド) 1997.04.28 第24頁第13行-第25頁第5行 図7 & WO 94029707 A & US 5427663 A & EP 711412 A & US 5837115 A & CA 2164720 A	1-26

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
「I」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)
「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

05.02.2004

国際調査報告の発送日

24.2.2004

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)
郵便番号 100-8915
東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

高見 重雄

印

2J

9116

電話番号 03-3581-1101 内線 3251

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y	WO 2002/023180 A (株式会社日立製作所) 2002. 03. 21 全文 図1-図14 (ファミリーなし)	17, 21-26
Y	JP 2002-310992 A (日立電子エンジニアリング株式会社) 2002. 10. 23 【0014】 - 【0016】 図1-図4 (ファミリーなし)	18
Y	JP 2002-55098 A (日本コロムビア株式会社) 2002. 02. 20 【0026】 - 【0035】 図3 (ファミリーなし)	21-26
A	JP 8-327594 A (株式会社島津製作所) 1996. 12. 13 全文 図1-図7 (ファミリーなし)	1-26
A	JP2001-183363 A (ロシュ・ダ・イグ・ノスティックス コーポレーション) 2001. 07. 06 全文 図1-図6 & EP 1096254 A & US 6319719 B & CA 2324131 A	1-26
A	JP 2-112755 A (富士写真フイルム株式会社) 1990. 04. 25 全文 第1図-第4図 (ファミリーなし)	17
A	JP 7-43344 A (理化学研究所) 1995. 02. 14 全文 図1-図8 (ファミリーなし)	17
A	JP 2001-324471 A (科学技術振興事業団) 2001. 11. 22 【0030】 - 【0036】 図1 (ファミリーなし)	21-26
A	Marko T. Blom, Han J. G. E. Gardeniers, Albert van den Berg Analyt ical Chemistry July 15, 2002 Vol. 74 No. 14 p. 3470-3475	1-26
A	James P Novak, Charles Nickerson, Stefan Franzen, Daniel L. Feld heim Analytical Chemistry December 1, 2001 Vol. 73 No. 23 p. 5758-5761	1-26

第Ⅰ欄 請求の範囲の一部の調査ができないときの意見 (第1ページの2の続き)

法第8条第3項 (PCT17条(2)(a)) の規定により、この国際調査報告は次の理由により請求の範囲の一部について作成しなかった。

1. ☐ 請求の範囲 _____ は、この国際調査機関が調査をすることを要しない対象に係るものである。つまり、
2. ☐ 請求の範囲 _____ は、有意義な国際調査をすることができる程度まで所定の要件を満たしていない国際出願の部分に係るものである。つまり、
3. ☐ 請求の範囲 _____ は、従属請求の範囲であってPCT規則6.4(a)の第2文及び第3文の規定に従って記載されていない。

第Ⅱ欄 発明の単一性が欠如しているときの意見 (第1ページの3の続き)

次に述べるようにこの国際出願に二以上の発明があるときの国際調査機関は認めた。

請求の範囲1-17、19-26に記載された発明は、分離領域に、試料中の特定成分を滞留させるための手段、例えば、捕捉部、幅広部を設けることを技術的特徴点としているのに対し、請求の範囲18に記載された発明は、該技術的特徴点を有さない。

1. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料をすべて期間内に納付したので、この国際調査報告は、すべての調査可能な請求の範囲について作成した。
2. ☒ 追加調査手数料を要求するまでもなく、すべての調査可能な請求の範囲について調査することができたので、追加調査手数料の納付を求めなかった。
3. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を一部のみしか期間内に納付しなかったため、この国際調査報告は、手数料の納付のあった次の請求の範囲のみについて作成した。
4. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を期間内に納付しなかったため、この国際調査報告は、請求の範囲の最初に記載されている発明に係る次の請求の範囲について作成した。

追加調査手数料の異議の申立てに関する注意

- ☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがあった。
☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがなかった。